

**Cerebrale Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung
nach bilateraler Innenohrschädigung -
vergleichende μ PET-Verhaltensstudie im Rattenmodell**

von Christina Eileen Branner

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Cerebrale Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung
nach bilateraler Innenohrschädigung -
vergleichende μ PET-Verhaltensstudie im Rattenmodell**

von Christina Eileen Branner

aus Lörrach

München 2020

Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie

Arbeit angefertigt unter der Leitung von:

Univ.-Prof. Dr. Eckhard Wolf

Angefertigt in der Nuklearmedizinischen Klinik und Poliklinik
und am Deutschen Schwindel- und Gleichgewichtszentrum
am Klinikum der Universität München

Mentor: PD Dr. Andreas Zwergal

**Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Eckhard Wolf
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Heidrun Potschka

Tag der Promotion: 8. Februar 2020

Meiner Familie

INHALTSVERZEICHNIS

I.	EINLEITUNG.....	1
II.	LITERATURÜBERSICHT	3
1.	Anatomie und Physiologie des Ohrs	3
1.1.	Auris externa und Auris media	3
1.2.	Auris interna.....	3
1.2.1.	Pars auditiva	4
1.2.2.	Pars statica	4
1.2.3.	Transduktion vestibulärer Stimuli	6
2.	Neuronale Verschaltung der Gleichgewichtsbahn	7
2.1.	Grundlagen der Neuroanatomie	7
2.1.1.	Neuronen	7
2.1.2.	Gliazellen	7
2.2.	Strukturen der Gleichgewichtsbahn.....	8
2.3.	Verarbeitung vestibulärer Reize	10
2.3.1.	Vestibuläre Reflexe	10
3.	Vestibuläre Kompensation	11
3.1.	Beteiligte Mechanismen	11
3.1.1.	Cerebrale Zellproliferation	13
3.1.2.	Mikrogliaaktivierung	15
4.	Schwindelerkrankungen.....	16
4.1.	Zentrale vestibuläre Syndrome	16
4.2.	Periphere vestibuläre Syndrome	16
4.2.1.	Benigner paroxysmaler Lagerungsschwindel	16
4.2.2.	Morbus Menière	16
4.2.3.	Akute unilaterale Vestibulopathie	17
4.2.4.	Vestibularisparoxysmie	17
4.2.5.	Ototoxizität.....	17
4.3.	Bilaterale Vestibulopathie.....	18
4.4.	Therapieansätze	18
5.	Vestibulopathie in der Tiermedizin	20
5.1.	Zentrale vestibuläre Erkrankungen.....	20
5.2.	Periphere vestibuläre Erkrankungen	20
5.2.1.	Otitis media	21
5.2.2.	Otitis interna.....	21
5.2.3.	Vestibularsyndrom	21

5.2.4.	Ototoxizität	22
5.3.	Bilaterale Vestibulopathie	22
6.	Tiermodell	23
6.1.	Bilaterale Labyrinthektomie	23
6.2.	Verhaltenstestung im T-Maze	23
7.	Positronen-Emissions-Tomographie	25
7.1.	Physikalische Grundlagen	25
7.1.1.	Radioaktivität	25
7.1.2.	Radioaktiver Zerfall	25
7.1.3.	β^+ - Zerfall	26
7.2.	Funktionsprinzip und Aufbau des Positronen-Emissions-Tomographen	27
7.3.	Radiotracer	29
7.3.1.	Herstellung [^{18}F]-gebundener Tracer	29
7.3.2.	3'-Deoxy-2'-[^{18}F]Fluorothymidin ([^{18}F]FLT)	30
7.3.3.	[^{18}F]Flutriciclamide ([^{18}F]GE180)	31
7.4.	PET-Bildgebung des vestibulären Systems	32
8.	Immunhistochemische Untersuchung mittels 5-Bromodeoxyuridine (BrdU)	34
9.	Arbeitshypothesen	35
III.	MATERIAL UND METHODEN	36
1.	Material	37
1.1.	Chemikalien	37
1.2.	Geräte	38
1.3.	Programme	39
1.4.	Lösungen	40
2.	Tiermodell	42
2.1.	Tierhaltung und Versuchstiere	42
2.2.	Operativer Eingriff	43
2.2.1.	Anästhesie und Analgesie	43
2.2.2.	Chemische Labyrinthektomie	43
2.3.	Verhaltensanalyse	45
2.3.1.	T-Maze	46
2.3.2.	Datenverarbeitung mit Video-gestützter Bewegungsanalyse	49
2.3.3.	Etablierung des T-Maze	49
2.4.	μPET -Messungen	50
2.4.1.	Protokoll des [^{18}F]FLT-Scans	51
2.4.2.	Protokoll des [^{18}F]GE180-Scans	51

2.5.	Euthanasie	52
2.6.	Perfusion und Gewebeentnahme	52
2.6.1.	BrdU-Applikation	52
3.	Histologische Aufarbeitung.....	53
3.1.	Fluoreszenz-Färbung	53
3.2.	Auswertung	54
4.	Datenanalyse	55
4.1.	VOI-Analysen.....	56
5.	Statistische Auswertung	57
5.1.	Statistical parametric mapping (SPM8)	57
IV.	ERGEBNISSE	58
1.	Krankheitsverlauf nach bilateraler Labyrinthektomie	59
1.1.	Klinische Beobachtungen.....	59
1.2.	T-Maze.....	59
1.2.1.	Abgeschlossene Durchläufe.....	59
1.2.2.	Erfolgsquote.....	60
1.2.3.	Zeit.....	60
1.2.4.	Distanz.....	61
1.2.5.	Geschwindigkeit.....	62
1.2.6.	Bewegungsverhalten.....	63
1.2.7.	Korrelation der Erfolgsquote mit Bewegungsparametern.....	64
2.	Histologische Auswertungen	65
2.1.	Subventrikuläre Zone	66
2.2.	Gyrus dentatus.....	68
2.3.	Nuclei vestibulares	69
3.	μPET-Analysen	70
3.1.	Untersuchung der Zellproliferation mittels [¹⁸ F]FLT	70
3.1.1.	Signalverlust in der subventrikulären Zone.....	71
3.1.2.	Signalverlust im Gyrus dentatus.....	73
3.1.3.	Signalzunahme in den Nuclei vestibulares	75
3.2.	Untersuchung der Mikrogliaaktivierung mittels [¹⁸ F]GE180.....	77
3.2.1.	Signalzunahme in der subventrikulären Zone.....	77
3.2.2.	Signalzunahme im Gyrus dentatus.....	78
3.2.3.	Signalzunahme in den Nuclei vestibulares	80
4.	Korrelationsanalysen.....	82
4.1.	μPET und Histologie	83

4.2.	μPET und Verhaltensparameter:	84
4.2.1.	[¹⁸ F]FLT-Uptake	84
4.2.2.	[¹⁸ F]GE180-Uptake.....	85
4.3.	[¹⁸ F]FLT und [¹⁸ F]GE180	86
V.	DISKUSSION	87
1.	Veränderung des Orientierungs- und Lokomotionsverhaltens nach bilateraler Labyrinthektomie	88
1.1.	Beeinträchtigung des räumlichen Gedächtnisses durch bilaterale Labyrinthektomie.....	88
1.2.	Gestörtes Lokomotionsverhalten durch bilaterale Labyrinthektomie	89
1.3.	T-Maze Lokomotionsparameter als Surrogatmarker für Raumorientierung .	90
2.	Zellproliferation nach vestibulärem Schaden	91
2.1.	Reduzierte Zellproliferation in hippocampalen Strukturen	91
2.2.	Erhöhte Zellproliferation in vestibulären Kerngebieten	93
2.3.	Methodische Bewertung des [¹⁸ F]FLT-μPET zur Darstellung der Zellproliferation in vestibulären Modellen	94
2.4.	Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen und andere Tierarten...	96
3.	Mikrogliaaktivierung nach vestibulärem Schaden	97
3.1.	Erhöhte Mikrogliaaktivierung in hippocampalen Strukturen	97
3.2.	Erhöhte Mikrogliaaktivierung in vestibulären Kerngebieten	98
4.	Korrelation von cerebraler Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung nach BL	99
5.	Methodik der chemischen Labyrinthektomie	100
VI.	ZUSAMMENFASSUNG	101
VII.	SUMMARY	103
VIII.	LITERATURVERZEICHNIS	105
IX.	VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN UND TABELLEN.....	119
1.	Abbildungsverzeichnis	119
2.	Tabellenverzeichnis	121
X.	DANKSAGUNG	122

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Ø	Durchmesser
[¹⁸ F]FLT	¹⁸ Fluor-Fluorothymidin, Radiopharmakon
[¹⁸ F]GE180	¹⁸ Fluor-Flutriciclamide, Radiopharmakon
°C	Grad Celsius
μ	mikro
Aqua ad inject.	Aqua ad injectabilia
Aqua dest.	Aqua destillata
BL	bilaterale Labyrinthektomie
BPPV	benigner paroxysmaler Lagerungsschwindel
C	caudal
Ca ²⁺	Calcium
cm	Zentimeter
D	dexter
d	day, Tag
DG	Gyrus dentatus
DNS	Deoxyribonukleinsäure
EM	Emissionsmessung
FELASA	Federation of European Laboratory Animal Science Associations, Vereinigung europäischer versuchstierkundlichen Gesellschaften
FOV	field of view, Gesichtsfeld eines PET-Scanners
h	Stunde
HCl	Salzsäure
IVC	individually ventilated cage
K ⁺	Kalium
keV	Kiloelektronenvolt

kg	Kilogramm
MBq	Megabecquerel
min	Minute
mm	Millimeter
N.	Nervus
NaCl	Natriumchlorid
NaOH	Natronlauge
OP	Operation
p	p-Wert, statistisches Signifikanzniveau
PBS	phosphate buffered saline, Phosphatpuffer
PET	Positronen-Emissions-Tomograph/ie
PFA	Paraformaldehyd
R	rostral
r	Korrelationskoeffizient
S	sinister
s	Sekunden
s.	siehe
SPM	statistical parametric mapping
SVZ	subventrikuläre Zone
TK1	Thymidinkinase1
TSPO	18 kDa Translokator-Protein
TX	Transmissionsmessung
VN	vestibulärer Nucleus
VOI	volume of interest
z.B.	zum Beispiel
ZNS	zentrales Nervensystem

I. EINLEITUNG

Schwindel ist ein sehr häufiges Symptom, das eine Beeinträchtigung der Sinneswahrnehmung von Gleichgewicht und räumlicher Orientierung darstellt (Chang & Olshaker, 2013). Der Begriff „Schwindel“ ist nicht klar definiert. Patienten benutzen ihn um unterschiedlichste, teils kombinierte, Empfindungen von Bewegung, Schwäche, Benommenheit, Unsicherheit und Depression zu beschreiben. Bei Tieren tritt Schwindel häufig akut mit einer lähmenden Symptomatik von Ataxie, Kopfschiefhaltung, Nystagmus und Nausea auf, was die Besitzer verängstigt (Kraeling, 2014). Schwindel kann von einer Vielzahl an Krankheiten hervorgerufen werden. Bei älteren Personen bestehen häufig Verbindungen zu kardiovaskulären, neurosensorischen und psychiatrischen Erkrankungen. Auch als Nebenwirkung beim Einsatz von Medikamenten kann das Symptom Schwindel auftreten. Die Schwierigkeit besteht für Ärzte und Tierärzte darin, Notfälle mit verborgenen gefährlichen Grunderkrankungen von gutartigen Geschehen zu unterscheiden (Sloane et al., 2001). Mit einer Lebenszeitprävalenz von 30% ist Schwindel das zweithäufigste Symptom in der Neurologie (Zwergal et al., 2018). Mit zunehmendem Alter steigt die Prävalenz vestibulärer Dysfunktionen auf fast 85% bei über 80-Jährigen (Agrawal et al., 2009). Durch inkorrekte oder ausbleibende Diagnostizierung von Schwindelbeschwerden entstehen Immobilität, Stürze, Depression, Angst und Vermeidungsverhalten (Strupp et al., 2015). Die Effekte von unterschiedlichen peripheren vestibulären Erkrankungen wurden in den letzten Jahren intensiv untersucht. Sie führen nachweislich zu kognitiven Defiziten in Aufmerksamkeit, Lernprozessen und Erinnerung. Viele Belege sprechen dafür, dass der Verlust vestibulärer sensorischer Information dauerhaft zu Veränderungen der Integrierung räumlicher und nicht-räumlicher Informationen in den kognitiven Arealen des Gehirns führt (Brandt et al., 2005). Die Betroffenen einer bilateralen Vestibulopathie sind insbesondere in ihrer physischen und sozialen Funktionalität eingeschränkt. Folge ist eine stark reduzierte Lebensqualität (Guinand et al., 2012). Es ist notwendig Schwindelerkrankungen, ihre Genese und ihren komplexen Verlauf noch besser zu verstehen, um Therapieoptionen zu erkennen und anzuwenden. Dies ist besonders im tiermedizinischen Bereich von großer Wichtigkeit da beispielsweise bei älteren Hunden mit Vestibularsyndrom nicht selten eine Euthanasie anstatt einer umfassenden Diagnostik und Therapie erwogen wird (Steenbeck, 2007).

Ziel dieser Arbeit war es, durch das etablierte präklinische Modell der bilateralen Vestibulopathie, mittels bilateraler chemischer Labyrinthektomie an Ratten, die strukturellen Veränderungen in zentralen vestibulären Netzwerken am Beispiel der Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung zu beschreiben und auf ihre funktionelle Relevanz zu untersuchen. Anhand der Korrelation zu sequentiell durchgeführten Verhaltensuntersuchungen sollte erforscht werden, inwieweit diese Prozesse zu einer partiellen Kompensation der Symptome einer bilateralen Vestibulopathie beitragen können und damit als mögliche Therapieziele dienen können.

II. LITERATURÜBERSICHT

1. Anatomie und Physiologie des Ohrs

Das Ohr besteht aus vier Komponenten: Auris externa (äußeres Ohr), Auris media (Mittelohr), Auris interna (Innenohr) und N. vestibulochochlearis (VIII. Hirnnerv). Die wichtigsten Funktionen umfassen die Aufnahme akustischer Signale und die Erhaltung des Gleichgewichts (Gotthelf, 2017).

1.1. Auris externa und Auris media

Beim Tier setzt sich das äußere Ohr aus drei elastischen Knorpelstrukturen zusammen die rassespezifische Form- und Größenunterschiede aufweisen: dem anulären, dem skutiformen und dem aurikulären Knorpel. Es dient der Lokalisation und Sammlung von Schallwellen sowie der Pflege und dem Schutz der Membrana tympani (Trommelfell) durch Produktion von Zerumen (Venker-Van Haagen, 2005). Das äußere Ohr wird durch das Trommelfell vom Mittel- und Innenohr getrennt. Bei diesem handelt es sich um ein membranöses Gebilde, welches durch seine spezielle Faseranordnung die vibratorische Reaktion auf eintretende Schallwellen optimiert (Boenninghaus & Lenarz, 2007). Das Mittelohr beschreibt den Raum innerhalb der knöchernen Bulla tympanica (Paukenhöhle). Dieser pneumatisierte Hohlraum sorgt durch die Tuba auditiva für den Druckausgleich auf beiden Seiten des Trommelfells. Die drei Ossicula auditus (Gehörknöchelchen) umfassen Malleus (Hammer), Incus (Amboss) und Stapes (Steigbügel). Sie sind als bewegliche Kette angeordnet, die zwischen Trommelfell und Fenestra vestibuli (ovales Fenster) verläuft und dienen der Übertragung und Verstärkung auditiver Vibrationen (Arnold & Ganzer, 2011).

1.2. Auris interna

Das Innenohr befindet sich direkt an die Bulla tympanica angrenzend und in der Pars petrosa ossis temporalis (Felsenbein). Es besteht aus dem Labyrinth osseus (knöchernes Labyrinth), das als Kapsel das Labyrinth membranaceus (häutiges Labyrinth) umgibt. Das knöcherne Labyrinth ist vollständig mit natriumreicher Perilymphe gefüllt. Es umfasst das Vestibulum (Vorhof) als zentralen Verbindungsraum, die drei Canales semicirculares ossei (knöcherne Bogengänge), die in drei Raumebenen angeordnet sind, sowie die Cochlea (Hörschnecke) (Boenninghaus & Lenarz, 2007). Das häutige Labyrinth enthält Teile des auditiven und des vestibulären Systems (Pars auditiva und Pars statica). Es ist mit kaliumreicher Endolymphe gefüllt und lässt sich als dünnwandiges Schlauchsystem beschreiben (Salomon et al., 2015).

1.2.1. Pars auditiva

Der Ductus cochlearis (Schneckengang) wird, als Teil des auditiven Systems, von der Reissner-Membran verschlossen. Der Schneckengang beherbergt das Corti-Organ, in welchem auditive Reize aus der Schallübertragung entstehen. Durch Vibrationen der Endolymphe wird das Sinnesepithel an einem bestimmten Ort der Cochlea angeregt. Das Sinnesepithel besteht aus Haarzellen. Sie sind mit Stereozilien besetzt, denen die Lamina tectoria aufgelagert ist. Eine auditive Anregung führt zur Lageveränderung der Stereozilien im Verhältnis zu der aufliegenden Lamina tectoria. Jeder wahrnehmbare Ton führt hier zur Entstehung eines spezifischen auditiven Reizes (Venker-Van Haagen, 2005).

1.2.2. Pars statica

Das vestibuläre System besteht aus den drei Ductus semicirculares (Bogengänge) sowie Sacculus und Utriculus. Winkel- und Rotationsbeschleunigungen können durch die Ausrichtung der Bogengänge in den drei Hauptebenen des Raumes detektiert werden. Translationsbeschleunigungen werden im vertikal angeordneten Sacculus und horizontal ausgerichteten Utriculus registriert. Alle Strukturen sind an einigen Stellen von Neuroepithel (Haarzellen) mit Kinozilien und Stereozilien ausgekleidet (s. Abbildung 1a). Die Zilien sind gruppiert angeordnet mit einer Kinozilie neben der sich mehrere Stereozilien befinden. Sie sind an ihren Spitzen durch Tip-links verbunden (Dewey & Da Costa, 2016). Jeder Bogengang enthält eine Crista ampullaris, auf der die Haarzellen lokalisiert sind. Eine gallertige Cupula bedeckt die Sinneshaare und verschließt an dieser Stelle den Bogengang. Winkel- und Rotationsakzeleration resultiert in einer Auslenkung der Cupula des homologen Bogenganges im Gegensatz zu trägen Bewegungen der umgebenden Endolymphe. In Sacculus und Utriculus ist das Neuroepithel herdförmig als Maculae angeordnet. Otolithen und die Otolithen-Membran sind dort der Cupula aufgelagert (De Lahunta et al., 2014). Durch Translationsbeschleunigungen erfolgt eine Verlagerung der Otolithen. Beide Vorgänge führen zu einer Deflektion der Stereozilien im Verhältnis zur Kinozilie und zu einer Reizentstehung im entsprechenden Neuroepithel (Uemura, 2015). Die sensorische Innervation erfolgt durch den VIII. Hirnnerven (Salomon et al., 2015).

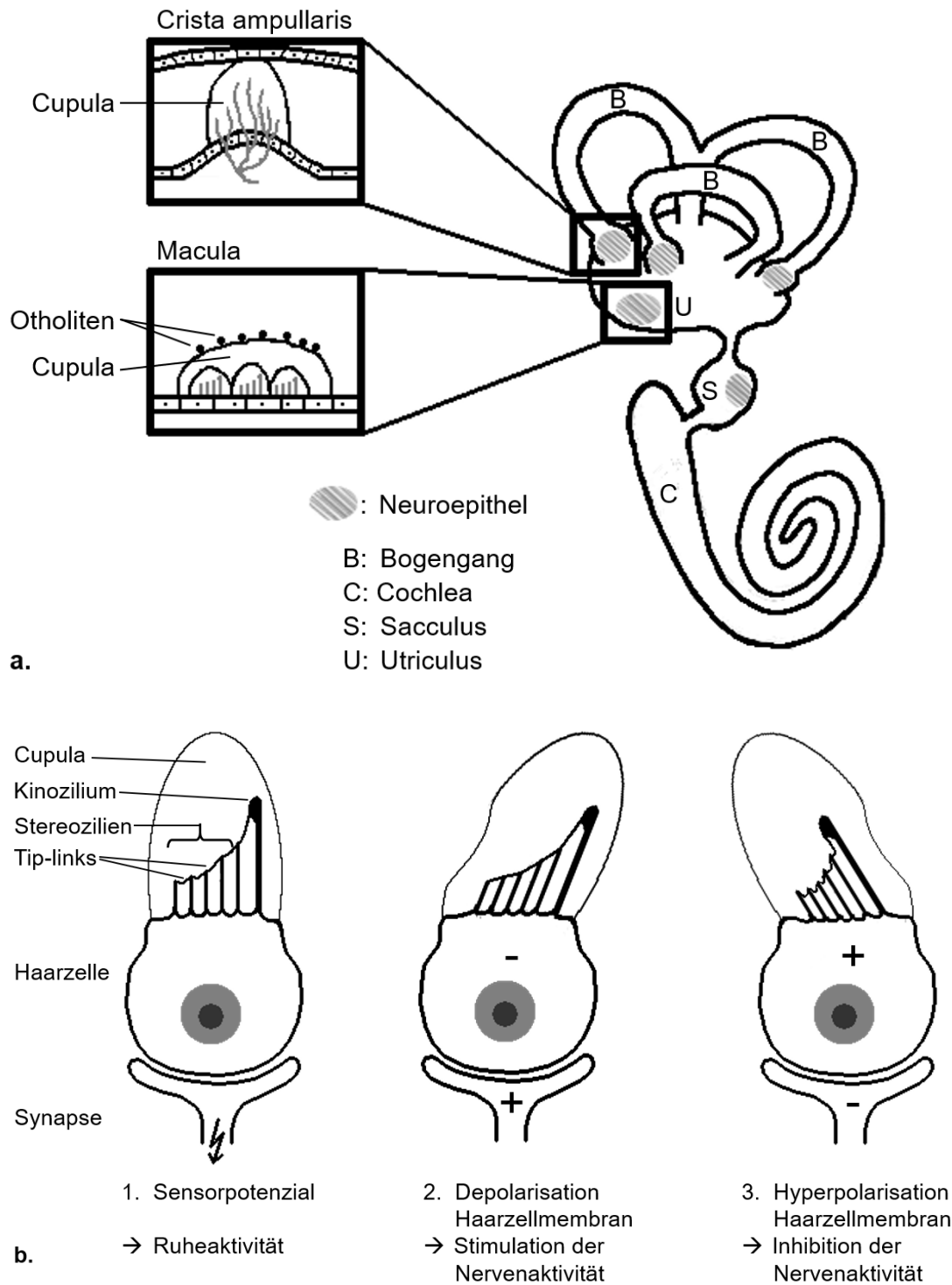


Abbildung 1: Vestibularapparat (adaptiert nach Boenninghaus & Lenarz, 2007)

a. Schematische Darstellung des Innenohres mit Details zu Neuroepithelien

b. Aktivität einer Haarzelle

1. Ruheaktivität; 2. Stimulation; 3. Inhibition des Sensorpotentials

1.2.3. Transduktion vestibulärer Stimuli

Mithilfe der Haarzellen kann ein mechanischer Reiz durch Sensorpotentiale in ein elektrisches Signal umgewandelt werden. Dieser Prozess wird als mechanoelektrische Transduktion bezeichnet (Boenninghaus & Lenarz, 2007). Befinden sich Kinozilien und Stereozilien in ihrer Ruheposition, wird eine konstante Rate von Nervenimpulsen ausgesandt. Eine bestimmte Anzahl von K^+ - sowie Ca^{2+} -Kanälen der Zellmembran ist geöffnet und das Ruhemembranpotential ist eingestellt. Eine Deflektion der Stereozilien im Verhältnis zur Kinozilie führt zu einer Dehnung der Tip-links. Dieser mechanische Reiz löst eine Konformationsänderung der Ionenkanäle und folglich eine Depolarisation oder Hyperpolarisation der Zellmembran aus. Eine Auslenkung der Stereozilien zur Kinozilie hin führt zur Depolarisation der Haarzellmembran und resultiert in einer Stimulation der Nervenaktionspotentiale. Eine Hyperpolarisation der Haarzellmembran wird durch die Auslenkung der Stereozilien von der Kinozilie weg ausgelöst und hat die Inhibition der Nervenaktionspotentiale zur Folge (s. Abbildung 1b) (Boenninghaus & Lenarz, 2007; Zenner, 2013). Nach Wiederherstellung der Ausgangsposition stellt sich das Ruhemembranpotential und somit die Ruheaktivität der Nervenfasern wieder ein (Angelaki & Cullen, 2008). Die Signaltransduktion der gegenüberliegenden Gleichgewichtsorgane geschieht contralateral stets gegensätzlich (Thomas, 2000). Erkrankungen des Vestibularapparates können de- und hyperpolarisierend wirken oder zu einem kompletten Ausfall der Nervenaktivität führen (Stoll et al., 2004).

2. Neuronale Verschaltung der Gleichgewichtsbahn

2.1. Grundlagen der Neuroanatomie

2.1.1. Neuronen

Neuronen sind der strukturelle und funktionelle Grundbaustein des Nervensystems. Jedes Neuron besteht aus Soma, Axon und Dendriten, deren Aufbau in Abhängigkeit der Funktion des Neurons variieren kann. Die Somata der Neuronen formen sich im zentralen Nervensystem (ZNS) zu funktionellen Clustern, den Nuclei (Kernen). Die einzigartigen Eigenschaften der Neuronen ermöglichen Reizaufnahme, -integration und -weiterleitung (Mattle & Mumenthaler, 2011). Synaptische Strukturen sind die Basis des komplexen neuronalen Netzwerkes zur Informationsverarbeitung. Einige Monate nach der Geburt verlieren Neuronen zunehmend die Fähigkeit zur Zellproliferation. Verletzungen führen zu Degeneration oder starker Atrophie der Zellen. Treten Nervenschädigungen in adulten Lebensphasen auf, resultiert neuronaler Tod, der die Struktur und Funktion betroffener Gebiete permanent verändert (Uemura, 2015).

2.1.2. Gliazellen

90% des nervösen Gewebes bestehen aus Gliazellen, welche strukturelle, metabolische und protektive Unterstützung für die Neuronen bieten. Ihre Anwesenheit ist unerlässlich für die Entwicklung des Nervensystems, synaptische Plastizität und Regeneration von Axonen nach Verletzungen. Gliazellen besitzen im Gegensatz zu Neuronen die essentielle Fähigkeit sich kontinuierlich zu teilen. Neurogliazellen umfassen Ependymzellen, Oligodendrozyten, Astrozyten und Mikrogliazellen (Mattle & Mumenthaler, 2011; Araque et al., 2014).

Ependymzellen nehmen in der subventrikulären Zone eine einzigartige Rolle ein. Sie kleiden die Wand der lateralen Ventrikel aus und dienen dem Schutz der neurogenen Nische (s. Kapitel II.3.1.1). Durch ihren engen Kontakt zu neuralen Precursorzellen haben sie die Möglichkeit deren Differenzierung aktiv zu regulieren (Lim et al., 2000). Oligodendrozyten unterstützen die Remyelinierung nach Verletzungen (Bond et al., 2015). Astrozyten kommunizieren interzellulär mit Neuronen. Sie sind aktiv involviert in Prozessierung, Transfer und Speicherung von Informationen über das Nervensystem (Araque & Navarrete, 2010).

Mikrogliazellen machen etwa 10% der Neurogliazellen aus. Eine stark vereinfachende Einteilung in die Zustände „prüfend“ bei intaktem ZNS und „aktiviert“ bei Verletzungen des ZNS kann getroffen werden. Prüfende Mikrogliazellen dienen aktiv ihrem Umfeld,

aktivierte Mikrogliazellen hingegen erzeugen ein heterogenes Umfeld, das sich je nach Stimulus dynamisch verändert (Benarroch, 2013). Mikrogliazellen fungieren in der Erhaltung der zellulären, synaptischen und myelinen Homöostase während der Entwicklung und im adulten Zustand des ZNS sowie als Antwort auf Verletzungen. Ihre Reparaturfunktionen können proinflammatorische, cytotoxische und immunregulatorische Wirkungen übernehmen (Benarroch, 2013; Wu et al., 2015). Zu diesem Zweck besitzt die Mikrogliazelle die Fähigkeit Phagozytoseaktivität zu entwickeln (Sierra et al., 2010). Im Rahmen entzündlicher Prozesse hat eine aktivierte Mikrogliazelle sowohl zu- als auch abträgliche Auswirkungen auf unterschiedliche Aspekte der adulten Neuroneogenese. Ausschlag darüber gibt das Gleichgewicht von ausgeschütteten Molekülen mit pro- oder antiinflammatorischen Effekten (Ekdahl et al., 2009). Weitere Einflüsse können die Interaktion mit anderen Zellen oder auch das Alter des Organismus sein (Du et al., 2017).

2.2. Strukturen der Gleichgewichtsbahn

Im Meatus acusticus internus (innerer Gehörgang) liegen die Somata der bipolaren Nervenzellen im zweigeteilten Ganglion vestibulare. Der N. vestibularis verbindet sich mit dem N. cochlearis zum N. vestibulocochlearis (VIII. Hirnnerv) und tritt am Corpus trapezoideum (Trapezkörper) in das Rhombencephalon (Rautenhirn) ein. Die zentralen Fortsätze enden in den Nuclei vestibulares (Vestibulariskerne). Fasern ziehen zu den folgenden Strukturen: über den inferioren cerebellären Pedunkel in das Vestibulocerebellum (Flocculus, Nodulus, Uvula); über den Fasciculus longitudinalis medialis (mediales Längsbündel) zu den Augenmuskelkernen (Nucleus nervi oculomotorii, Nucleus nervi trochlearis und Nucleus nervi abducentis); über multisynaptische aufsteigende Projektionen zum parieto-insulären vestibulären und somatosensorischen Cortex, sowie zum Hippocampus; über absteigende vestibulo-spinale Bahnen zum Vorderhorn des Rückenmarks (Boenninghaus & Lenarz, 2007; Salomon et al., 2015; Brandt & Dieterich, 2017).

Nuclei vestibulares

Fast alle Neuronen des peripheren Vestibularsystems bilden Synapsen zum ipsilateralen vestibulären Kern aus, der aus vier Subkernen besteht (Nuclei superior, inferior, lateralis, medialis) (Brodal, 1974). Alle Vestibulariskerne befinden sich im rostralen Drittel der Medulla oblongata und grenzen lateral des Sulcus limitans an den vierten Ventrikel (Salomon et al., 2015). Ihre Hauptaufgabe ist eine Vielzahl an sensorischen Informationen (vestibulär, propriozeptiv, taktil und visuell) zu integrieren und in motorische Informationen umzuwandeln (Angelaki & Cullen, 2008). Projektionen

auf kontralaterale Vestibulariskerne bestehen um Informationen beider Körperhälften zu verknüpfen (Stoll et al., 2004). Zahlreiche Projektionen der vestibulären Kerne werden zu verschiedenen Bereichen des ZNS gesandt. Die Formatio reticularis ist als Assoziationsfeld des Hirnstammes verbunden. Über das mediale Längsbündel werden Projektionen zu den Augenmuskelkernen zur Kontrolle der Augenbewegungen übertragen. Weitere aufsteigende Projektionen erreichen über thalamische und extra-thalamische Netzwerke multisensorische Cortexareale und den Hippocampus (Hitier et al., 2014; Brandt & Dieterich, 2017). Projektionen zum Hypothalamus bestehen zur Kontrolle vegetativer Funktionen. Efferente Fasern verlaufen zu den Inter- und Motoneuronen im Rückenmark, die vestibulo-spinale Reflexe realisieren (Uemura, 2015).

Cerebellum

Das Cerebellum liegt dorsal der Pons und rostral der Medulla oblongata. Es steht in engem Kontakt zum cerebralen Cortex, dem Hirnstamm (mit dem vestibulären System) und dem Rückenmark, da es koordinierte Bewegungsabläufe von Augen, Extremitäten und Körperstamm abstimmt. Durch kontinuierliches Abgleichen von cortikalem motorischem Output und peripherer Muskelantwort adjustiert das Cerebellum Ausmaß und Richtung jeder Bewegung. Vor allem der Lobus flocculonodularis (im Vestibulo-cerebellum) fungiert als Schnittstelle zum Vestibularsystem (Uemura, 2015; Gotthelf, 2017).

Thalamus

Der Thalamus ist eine große Ansammlung von Nuclei mit einer paarigen Anordnung im ventromedialen Cerebrum. Als größte Schaltstelle integriert er sensorische, motorische und limbische Signale, um sie anschließend an den cerebralen Cortex zu projizieren. Bewusstsein und Aufmerksamkeit werden so beeinflusst. Ein Abgleich vestibulärer mit propriozeptiven Informationen findet kontinuierlich statt. Im Menschen konnten thalamische Strukturen determiniert werden, die bei Beschädigungen Einfluss auf contra- oder ipsiversive Tonusimbancen haben (Baier et al., 2016).

Hippocampale Formation

Die hippocampale Formation befindet sich im parahippocampalen Gyrus und formt die mediale Wand des Temporalhorns vom lateralen Ventrikel. Sie besteht aus drei Strukturen: dem Hippocampus, dem Gyrus dentatus und dem Subiculum. Fasern verlaufen sowohl zwischen den drei Strukturen als auch zu Hypothalamus und Thalamus. Die hippocampale Formation übernimmt eine wichtige Rolle bei Lern- und Gedächtnisprozessen, der Übertragung von Kurzzeit- zu Langzeitgedächtnis,

räumlicher Orientierung und Navigation sowie der Regulation von aggressivem Verhalten (Mcnaughton et al., 1991; Russell et al., 2000).

2.3. Verarbeitung vestibulärer Reize

Anhand der vielfältigen Verschaltung des vestibulären Systems lässt sich erahnen, dass es an zahlreichen Prozessen beteiligt ist. Darunter sind posturale und okulomotorische Reflexe sowie andere sensorische und motorische Signale (Angelaki & Cullen, 2008). Auch Interaktionen und Beiträge zu kognitiven Prozessen, einschließlich Wahrnehmung, räumlicher Orientierung, Körperempfinden, Aufmerksamkeit, Gedächtnis und Emotionen, wurden nachgewiesen (Lacour & Bernard-Demanze, 2015). Die vestibulären Kerne der rechten und linken Seite erhalten kontinuierlich Informationen über die Feuerrate der vestibulären Nerven. Dies findet spontan und ununterbrochen statt. Durch Änderung der Kopfposition oder Kopfbewegungen wird diese Ruhe-Feuerrate physiologischerweise in beiden vestibulären Kernen gegensätzlich verändert (push-pull-Prinzip) (s. Kapitel II.1.2.3).

2.3.1. Vestibuläre Reflexe

Ohne die vestibulo-spinalen Reflexe wäre es dem Menschen nicht möglich aufrecht zu gehen (Koordinationsfunktion). Durch die Regulierung unterer Motoneuronen, die Extensoren innervieren, können Fallbewegungen des Körpers durch entsprechende Muskelkontraktion ausgeglichen werden (Uemura, 2015). Ein Verlust dieser Informationen kann zu klinischen Symptomen wie Kopfschiefhaltung oder Gang- und Standunsicherheit führen (Gotthelf, 2017).

Die vestibulo-okulären Reflexe ermöglichen die Blickstabilisierung bei raschen Kopfbewegungen (Zenner, 2013). Bei jeder Kopfbewegung wird mit einer Latenz von 8 ms eine kompensatorische Augenbewegung mit gleicher Geschwindigkeit in die entgegengesetzte Richtung ausgelöst (Dlugaiczky, 2011).

3. Vestibuläre Kompensation

Wenn der vestibulär-sensorische Input pathologisch verändert wird, tritt ein akutes Vestibularsyndrom auf. Ein Tonusungleichgewicht der Vestibulariskerne entsteht (Zwergal & Schniepp, 2010). Daraus folgen Beeinträchtigungen der Balance, der Blickstabilisation, der vegetativen Funktion und der Kognition (Angelaki & Cullen, 2008). Die Symptome nehmen progressiv mit spezifischer Kinetik ab. Dieses Phänomen wird als „vestibuläre Kompensation“ bezeichnet (Lacour et al., 2016). Statische Defizite können in der Regel innerhalb von Tagen bis Wochen kompensiert werden, dynamische Defizite hingegen können nur über einen längeren Zeitraum kompensiert werden oder persistieren (Curthoys & Halmagyi, 1998; Darlington & Smith, 2000). Die vestibuläre Kompensation besteht immer aus drei Prozessen: der Wiederherstellung, der Adaptation unter Beteiligung der visuellen und propriozeptiven Systeme und der Habituation (Blockieren unerwünschter Reaktionen) (Dutia, 2010). Die ersten drei Wochen der vestibulären Kompensation wurden als kritischer Zeitraum identifiziert, in dem wichtige Plastizitätsmechanismen zur funktionellen Wiederherstellung ablaufen (Dutheil et al., 2009).

3.1. Beteiligte Mechanismen

Tiermodelle konnten zeigen, dass elektrophysiologische Asymmetrien zwischen den vestibulären Kernen über den Verlauf der vestibulären Kompensation ausgeglichen werden (Darlington & Smith, 2000). Dieser Prozess wird über die Aktivität von (Typ-I-) Neuronen und Interneuronen zwischen den Vestibulariskernen reguliert. Direkt nach einem Schaden besteht eine deutliche Reduzierung der Spontanentladungsrate der ipsiläsionalen Neuronen. Innerhalb der Erholungsphase gleichen sich diese Rate und das Phasenverhalten wieder an, erreicht jedoch nicht das Niveau eines intakten Organs (Zwergal & Schniepp, 2010). GABAerge Modulationen von Verbindungen zwischen Vestibulocerebellum und vestibulären Kerngebieten tragen einen Teil zum Ausgleich von Imbalancen bei (Zwergal & Schniepp, 2010). Statische Defizite können durch diesen schnellen Mechanismus bereits weitestgehend behoben werden (Ris et al., 1995). Langzeitveränderungen der elektrophysiologischen Eigenschaften der vestibulären Kerngebiete, Zellproliferation und Umverteilung synaptischer Verbindungen brauchen einen längeren Zeitraum um einzutreten (Bergquist et al., 2008). Die ausgelösten Prozesse sind vielfältig und finden mit aufsteigender Zeitdynamik statt (s. Abbildung 2). Entzündliche Reaktionen laufen früh ab, Neuroneogenese und strukturelle Plastizitätsprozesse setzen später ein (Tighilet & Chabbert, 2019). Die damit verbundenen dynamischen Kompensationsprozesse

erfordern eine umfassende Reorganisation des ZNS (Curthoys, 2000). Visuelles und propriozeptives System leisten zusätzlich einen Beitrag in der Adaptation und Substitution der verlorenen vestibulären Leistung (Hamann & Lannou, 1988). Bei einem bilateralen Ausfall der vestibulären Information kann die Kompensation nicht wie beschrieben stattfinden. Ohne nutzbare vestibuläre Restfunktion ist die partielle Besserung der Symptomatik (z.B. posturale Kontrolle) vor allem durch eine multisensorische Substitution möglich (Eilles, 2016). Zentrale reaktive Prozesse können auch bei bilateralen Läsionen beobachtet werden. Beispielhaft zeigt sich in einer Studie von Besnard et al. (2012) eine erhöhte Dichte von hippocampalen Neurotransmitter-Rezeptoren nach bilateralem Schaden. Strukturelle plastische Veränderungen z.B. durch Zellproliferation und Gliaaktivierung könnten zu einer Besserung der Symptome beitragen.

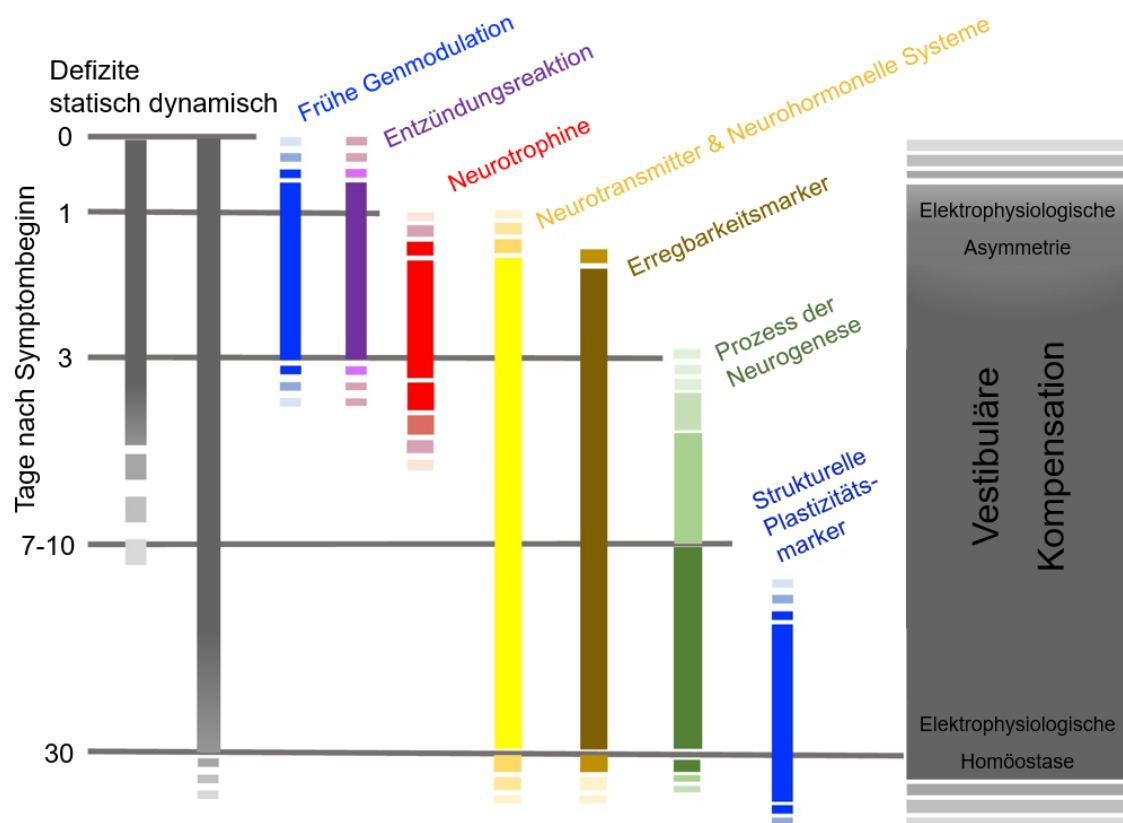


Abbildung 2: Kinetik reaktiver Neuroplastizitätsmechanismen im deafferentierten Nucleus vestibularis (Tighilet & Chabbert, 2019)

Diese Abbildung illustriert die temporale Korrelation zwischen statischen und dynamischen vestibulären Syndromen, reaktiven Plastizitätsmechanismen und elektrophysiologischen Adjustierungen im deafferentierten vestibulären Kern.

Copyright Clearance vorhanden

3.1.1. Cerebrale Zellproliferation

Im ZNS bedeutet Zellproliferation die Aktivierung neuraler Stammzellen. Diese bilden Progenitorzellen, die sich einige Male teilen um Neuroblasten zu generieren. Neuroblasten können sich zu unterschiedlichen Subtypen von Interneuronen und Oligodendrozyten oder unreifen Neuronen und Astrozyten differenzieren (Bond et al., 2015). Der Prozess der cerebralen Zellteilung wird unter anderem durch Apoptose reguliert. So werden überzählige Zellen in den neurogenen Nischen eliminiert und es resultiert die Selbsterneuerung des Gehirns (Biebl et al., 2000). Die Generierung neuer Neuronen ist im gesunden Gehirn auf die neurogenen Nischen begrenzt. Eine bevorzugte neuronale Differenzierung der neuralen Stammzellen wird dort durch neurogene Nischensignale vermutet, die der gliotischen Differenzierung entgegenwirken (Duan et al., 2008). So wurde in Studien an Hund und Ratte eine Differenzierung von maximal 11% zu Astrozyten und dem Großteil der neugeborenen Zellen zu jungen Neuronen berichtet (Cameron et al., 1993; Bekiari et al., 2019). Die Generierung von jungen Neuronen wird auch als unterstützender Faktor der fortlaufenden Gehirnentwicklung diskutiert, da nur ein kleiner Teil der Zellen maturiert und funktionell integriert wird (Winner et al., 2002). Neu generierte Gliazellen, vor allem Astrozyten, können das neuronale Netzwerk stärken sowie weitere Proliferation, die Differenzierung und das Überleben der neuralen Stammzellen fördern (Seri et al., 2004; Morrens et al., 2012).

3.1.1.1. Zellproliferation in physiologischen neurogenen Nischen

Neurale Stammzellen, mit der Fähigkeit zu proliferieren und sich lebenslang zu Neuronen zu differenzieren, wurden von Wissenschaftlern im Bulbus olfactorius und Gyrus dentatus nachgewiesen (Kaplan & Hinds, 1977; Eriksson et al., 1998). Schon 1965 wurde der wissenschaftliche Konsens, dass das adulte Gehirn keine neuen Neuronen generieren kann, im hippocampalen Gyrus dentatus (DG) des Rattenhirns widerlegt (Altman & Das, 1965). Als weitere Struktur in der neurale Stammzellen proliferieren können (neurogene Nische) wurde die subventrikuläre Zone (SVZ) identifiziert (Gage, 2000). Neue Neuronen haben ein hohes Potential zur Plastizität und somit eine herausragende Fähigkeit zur afferenten und efferenten synaptischen Integration (Ming & Song, 2011). Sie nehmen eine exzeptionelle Rolle in der Verarbeitung und Speicherung kognitiver Informationen ein. Eine Verbindung zwischen Neuroneogenese und temporaler sowie räumlicher Kontextualisierung kann hergestellt werden. Erinnerungsvermögen und der Prozess des Vergessens sind mit dem Hippocampus verbunden, ebenso wie affektives Verhalten (Zhao et al., 2008; Tronel et al., 2010; Kempermann et al., 2018). Die neurale Stammzellproliferation wird als

dynamischer und sensitiver Prozess angesehen, der auf physiologische, pharmakologische und pathologische Weise beeinflussbar ist. Seine synergistischen und antagonistischen Faktoren sind in ihrer Vielfalt und Komplexität noch nicht vollständig untersucht. Im Mausmodell konnten verschiedene Einflussfaktoren, z.B. Genetik, Umgebungsreize und Bewegung, identifiziert werden (Kempermann et al., 1997, 1998; Van Praag et al., 1999; Kempermann et al., 2002). Als beteiligte Signalwege wurden zytoplasmatische Faktoren, Transkriptionsfaktoren, epigenetische Regulatoren, Wachstumsfaktoren, Neurotrophine, Zytokine und Hormone determiniert (Ming & Song, 2011). Astrozyten fungieren als Schnittstelle und modulieren Einflüsse des Endothels und zirkulationsabgeleiteter Faktoren sowie die Verfügbarkeit von Zytokinen und Wachstumsfaktoren. Hierüber erfolgt bekanntermaßen die Regulation von Proliferation, die Spezifikation von neuronalen Precursoren, die neurale Migration sowie die Reifung und Synapsenformierung (Leventhal et al., 1999; Barkho et al., 2006; Ming & Song, 2011). Unmittelbare Nachkommen von neuronalen Stammzellen haben die Fähigkeit Signale wie den Neurotransmitter GABA auszuschütten. Mit einem negativen Feedback auf die Aktivierung der neurale Stammzellproliferation wird ebenso die Zellteilungsrate reguliert (Liu et al., 2005).

Aufgrund von Studien, die nachweisen konnten, dass das vestibuläre System eine wichtige Rolle bei räumlicher Orientierung, Erinnerung und Kognition spielt, liegt die Schlussfolgerung nahe, dass dieses System in Abhängigkeit zur Zellproliferation und Neuroneogenese in hippocampalen Strukturen steht. Eine Beeinflussung der Stabilität und Feuerrate von place und grid cells wurde durch einen veränderten theta Rhythmus im Hippocampus in vestibulären Modellen festgestellt (Russell et al., 2000; Russell et al., 2003, 2006). Bei bilateraler Vestibulopathie wurde von Brandt et al. (2005) in Patienten eine hippocampale Atrophie nachgewiesen, die mit dem Ausmaß der gestörten räumlichen Orientierung korrelierte. Es konnte bisher nicht determiniert werden, ob Zelltod, Veränderungen in der Zytoarchitektur oder eine reduzierte Zellteilungsrate ursächlich sind. In Ratten konnte histologisch und mittels EEG eine Veränderung der dendritischen Strukturen sowie der theta-generierenden Leitungsbahn nachgewiesen werden (Balabhadrapatruni et al., 2016; Aitken et al., 2017a, 2017b). Bei einseitigem Labyrinthausfall konnte keine Beeinträchtigung des räumlichen Gedächtnisses oder eine Hippocampusatrophie beobachtet werden (Hüfner et al., 2007).

3.1.1.2. Zellproliferation in den Vestibulariskernen

Verletzungen werden als Ursache für Zellproliferation und Neuroneogenese außerhalb der bekannten neurogenen Nischen angenommen (Gould, 2007). In den letzten Jahren

wurde auch in den vestibulären Kerngebieten von reaktiver Neuroneogenese nach peripherem vestibulärem Schaden berichtet und damit eine neue neurogene Nische etabliert. Tighilet et al. (2007) sowie Dutheil et al. (2011) zeigten, dass nach einseitigem vestibulärem Schaden eine reaktive Neuroneogenese mit Maximum 3d post OP im deafferentierten Nucleus vestibularis stattfindet. Eine Differenzierung zu GABAergen Neuronen, Astrozyten und Mikrogliazellen wurde nachgewiesen. Entzündungsreaktionen werden als Auslöser angenommen (Tighilet et al., 2014). Diese Beobachtungen konnten nur nach einer strukturellen Deafferentierung des VIII. Hirnnerven dargestellt werden. Eine Studie von Zheng et al. (2010) zeigte erhöhte Zellproliferation und -differenzierung in den vestibulären Kerngebieten an Ratten, die einer bilateralen Labyrinthektomie unterzogen wurden. Eine schnellere Reaktion auf die Deafferentierung im Vergleich zu unilateral operierten Tieren wurde festgestellt. Da sich kein signifikanter Unterschied zu Kontrollgruppen ergab, ist die funktionelle Relevanz von reaktiver Neuroneogenese und Gliose nach bilateralem Innenohrschaden noch nicht belegt. Die Funktionalität der neu generierten Zellen steht infrage und wurde sogar mit maladaptiven Prozessen in Verbindung gebracht (Tighilet et al., 2016).

3.1.2. Mikrogliaaktivierung

Nach unilateralem Schaden ist eine erhöhte Zahl an Mikrogliazellen im deafferentierten vestibulären Kern nachweisbar. Die Zellen sind hypertroph und können akut nach dem Schaden bis zu sieben Wochen lang in allen vier vestibulären Subkernen detektiert werden (Torres et al., 1999). Dutheil et al. (2009) zeigten nach unilateraler vestibulärer Neurektomie, dass die Präsenz von neuroinflammatorischen Faktoren eine Voraussetzung für die vestibuläre Neuroneogenese ist. Starke astrozytische, mikrogliotische und inflammatorische Reaktionen beeinflussten die Neuroneogenese positiv (Tighilet et al., 2006). Viele Signale können Mikrogliazellen aktivieren, da sie unter anderem mit Rezeptoren für Neurotransmitter, Zytokine und Chemokine ausgestattet sind. Mikrogliazellen erhalten stets von gesunden Neuronen die Information in prüfendem Zustand zu bleiben, womöglich löst auch ein Verlust dieses Signals eine Aktivierung aus (Benarroch, 2013). Gliazellen können auf unterschiedlichen Wegen die neuronale Erregbarkeit, synaptische Aktivität und Plastizität beeinflussen. Durch Modulation von Transmittern wie Glutamat oder des K⁺-Umsatzes sind sie imstande Neuroneogenese und Gliogenese zu regulieren (Araque et al., 2014; Bellot-Saez et al., 2017; Káradóttir & Kuo, 2018).

4. Schwindelerkrankungen

Schwindelerkrankungen können nach ihrer Lokalisation in peripher und zentral eingeteilt werden (Strupp et al., 2018).

4.1. Zentrale vestibuläre Syndrome

Häufigste Ursache eines spontan auftretenden zentralen Schwindels ist die vestibuläre Migräne. Diverse cerebrale Prozesse können Schwindel induzieren, wie Ischämien und Blutungen in Hirnstamm oder Cerebellum, Multiple Sklerose mit entzündlichen Läsionen, Kleinhirndegeneration, Demenzen, Neoplasien, Meningitiden oder Enzephalitiden (Obermann, 2013; Feil et al., 2015). Durch hervorgerufene Läsionen entlang der vestibulären Bahnen entstehen zentral bedingte Schwindelformen mit typischen Befunden aus Okulomotorik, Wahrnehmung und Haltungsregulation (Brandt et al., 2004). Da sich die vorliegende Arbeit auf einen peripheren vestibulären Schaden bezieht, wird hier nicht näher auf zentrale Geschehen eingegangen.

4.2. Periphere vestibuläre Syndrome

Die folgenden peripheren vestibulären Erkrankungen sind in der Reihenfolge ihrer Inzidenz aufgeführt (Brandt et al., 2004).

4.2.1. Benigner paroxysmaler Lagerungsschwindel

Der benigne paroxysmale Lagerungsschwindel (BPPV) ist die vestibuläre Erkrankung mit der höchsten Prävalenz, trotz häufiger Unterdiagnostizierung (Neuhauser, 2009). Patienten leiden an anfallsartigen Schwindelattacken, die positionsabhängig ausgelöst werden und nach wenigen Sekunden in Ruhe verschwinden (Bozzato et al., 2013). Ursache sind losgelöste Otolithenpartikel, die in die Endolymphe eines Bogenganges gelangen und dort zu pathologischen Auslenkungen der Cupula führen (Delank & Gehlen, 2006). Mit speziellen Lagerungsmanövern, lässt sich der betroffene Bogen-gang eindeutig diagnostizieren und anschließend mit dem entsprechenden Manöver durch gezielte Kopf- und Körperdrehungen therapieren (Obermann, 2013; Strupp et al., 2018). Die Rezidivrate der behandelten Patienten liegt bei 50% (Brandt et al., 2006). Bei unbehandelten Patienten persistiert der BPPV in 30% aller Fälle (Imai et al., 2006).

4.2.2. Morbus Menière

Morbus Menière ist ein komplexes Syndrom, das durch multiple rezidivierende Episoden spontanen Schwindels von mindestens 20 Minuten Dauer in Verbindung mit der Symptomtrias Hörverlust, Tinnitus und Ohrdruckgefühl gekennzeichnet ist (Brandt et al., 2004). Die Erkrankung kann ein- oder beidseitig vorkommen und im Verlauf von

Jahren zu einer bleibenden Hörminderung und vestibulären Schädigung führen (Strupp et al., 2018). Es wird vermutet, dass eine Ansammlung von Endolymphe als Hydrops in der Cochlea und im Labyrinth zu einer erhöhten Membranspannung und somit zur Beeinflussung von Ionenkanälen führt. In den Attacken kommt es zu einer pathologischen Exzitation mit nachfolgender Depolarisation der Haarzellen (Feil et al., 2015). Es ist bisher nicht geklärt, ob der Hydrops die Ursache oder eine Begleiterscheinung der Erkrankung ist (Zwergal et al., 2018). Als Folgeerscheinung des Morbus Menière können sich sekundäre psychische Beeinträchtigungen entwickeln (Blödow et al., 2012).

4.2.3. Akute unilaterale Vestibulopathie

Die Symptomatik der akuten unilateralen Vestibulopathie besteht aus Drehschwindel, horizontal rotierendem Spontannystagmus, Fallneigung und Gangabweichungen sowie Übelkeit und Erbrechen. Das klinische Bild ist abhängig vom Grad der Beeinträchtigung des betroffenen Vestibularorgans (Blödow et al., 2012). Die Erkrankung wird durch den einseitigen Ausfall des Labyrinths und/oder des superioren Anteils des N. vestibularis ausgelöst. Meist ist dies bedingt durch eine Infektion mit dem Herpes simplex Virus Typ 1 (Feil et al., 2015). Nach einer ersten Krankheitsphase mit starken Beschwerden, erreichen Patienten durch vestibuläre Kompensationsprozesse nach drei bis fünf Wochen Beschwerdefreiheit unter statischen Bedingungen (Brandt et al., 2004). Von klinischer Bedeutung ist die Unterscheidung zu zentralen Ursachen (z.B. Schlaganfall), um eine entsprechende Therapie einzuleiten.

4.2.4. Vestibularisparoxysmie

Die Vestibularisparoxysmie ist eine Krankheit, die durch spontane Dreh- oder Schwindelattacken unter einer Minute gekennzeichnet ist. Als wahrscheinlichste Ursache wird angenommen, dass der rostroventrale Teil des VIII. Hirnnerven neurovaskulär komprimiert wird. Eine Abgrenzung zu cerebralen Tumoren mittels Magnetresonanztomographie ist der wichtigste diagnostische Schritt (Obermann, 2013; Strupp et al., 2018).

4.2.5. Ototoxizität

Systemisch angewendete Medikamente zur Therapie unterschiedlicher Erkrankungen können teilweise stark negative Wirkungen auf das Gehör und den Gleichgewichtssinn ausüben. In einer Studie von Hermann et al. (2018) wurden 20% der untersuchten Fälle einer bilateralen Vestibulopathie durch systemische Gentamicin-Behandlung hervorgerufen. 1% der menschlichen Population leidet an einer genetischen Prädisposition für eine Gentamicin-Ototoxizität (Gotthelf, 2017). Auch andere

Medikamente aus der Gruppe der Aminoglykoside oder Diuretika können unter bestimmten Voraussetzungen Ototoxizität entwickeln.

4.3. Bilaterale Vestibulopathie

Die bilaterale Vestibulopathie ist ein chronisches Vestibularsyndrom. Die Leitsymptome sind posturale Imbalance und Unsicherheit beim Stehen und Gehen, die sich bei Dunkelheit oder unebenem Untergrund verschlimmern. Sie ist die häufigste Ursache von bewegungsabhängigem Schwindel im Alter (Zwergal et al., 2018). Ein erhöhtes Risiko zu Fallen kann gerade im Alter zu weiteren Verletzungen führen (Jahn et al., 2010). Die Symptome umfassen durch Bewegung hervorgerufene Oszillopsien (Scheinbewegung der Umwelt) sowie indirekt durch die vestibulären Defizite herbeigeführte Störungen. Zu letzteren gehören eine verringerte soziale Interaktion, Depressionen, Konzentrations- und Gedächtnisbeeinträchtigungen sowie eine generell reduzierte Lebensqualität (Strupp et al., 2018). In mehr als 50% der Fälle bleibt die Ursache der Erkrankung unklar (Obermann, 2013). Häufigste erkannte Ursache sind ototoxische Medikamente (s. Kapitel II.4.2.5), gefolgt von degenerativen Alterserscheinungen, Meningoencephalitiden, autoimmunen Vorgängen und bilateralem Morbus Menière (Zingler et al., 2008). Geschädigt oder zerstört wird bei der bilateralen Vestibulopathie die Funktion der Labyrinth oder der VIII. Hirnnerven (Baloh et al., 1989). Eine eindeutige Diagnose kann gestellt werden, wenn die beschriebene Symptomatik in Verbindung mit dem beidseitig beeinträchtigten oder fehlenden vestibulo-okulären Reflex diagnostiziert wird (Strupp et al., 2017). Die Prognose bei bilateraler Vestibulopathie ist ungünstig, da sich der Zustand von über 80% der Patienten, unabhängig von Ätiologie und Verlaufsform der bilateralen Vestibulopathie, nicht verbessert (Zingler et al., 2008).

4.4. Therapieansätze

Therapieansätze bei Schwindelerkrankungen lassen sich generell in zwei Methoden unterscheiden: die medikamentöse Therapie, um Einfluss auf die Mechanismen der vestibulären Kompensation und Genesung des Patienten zu nehmen, und die Rehabilitation durch Physiotherapie. Ein früher Beginn der Behandlung ist in jedem Fall für den Verlauf der Kompensation von Vorteil (Lacour & Bernard-Demanze, 2015). Die genauen Prozesse bei vestibulären Erkrankungen und deren Kompensation sind aufgrund ihrer Komplexität noch immer nicht abschließend geklärt. Aus diesem Grund wird weiterhin nach neuen Möglichkeiten gesucht, um den vestibulären Kompensationsprozess zu verstehen und zu modulieren (Smith & Darlington, 1991). Da bisher keine kontrollierten Studien zur pharmakologischen Beeinflussung

vestibulärer Kompensationsprozesse durchgeführt wurden, gibt es keine Empfehlung zur Behandlung. Die Wirksamkeit von Medikamenten, die schon seit vielen Jahren zur Behandlung von Schwindelerkrankungen angewandt werden, wird aktuell hinterfragt und überprüft (Adrion et al., 2016). Laut Herdman (2013) ist der symptomatische Druck in der Initialphase eines akuten Vestibularsyndroms essentiell, um die Mechanismen der vestibulären Kompensation anzustoßen. Somit wird abgeraten von symptomatischen Therapien, da Kompensationsprozesse dadurch nachweislich verlangsamt werden (Zwergal & Schniepp, 2010). Substanzen zur symptomatischen Behandlung sollten nur bei kurzen Attacken (z.B. bei Morbus Menière) Einsatz finden (Beck et al., 2014). Medikamente zur Beschleunigung der vestibulären Kompensation ohne negative Auswirkungen im Zeitverlauf werden für die Indikation Schwindel erforscht (Günther et al., 2015; Lindner et al., 2019). Physikalische Trainingsprogramme erzielen den größten Therapieerfolg, vor allem bei früher und kontinuierlicher Therapie (Blödown et al., 2012). Aktive Übungen führen hierbei zu einem besseren Ergebnis, als passive Trainingseinheiten (Cotman & Berchtold, 2002). Galvanische Stimulation konnte die Leistung während des Gehens bei Patienten und in der Ratte verbessern, jedoch mangelt es bisher an Langzeitstudien um die Wirksamkeit auf Dauer zu bestätigen und negative Folgeerscheinungen auszuschließen (Eilles, 2016; Iwasaki et al., 2018). Individuelle (eventuell auch psychologische) Betreuung sollte wesentlicher Bestandteil jedes Therapieplans sein, um zu motivieren und Stress oder Frustration zu vermeiden und bessere Therapieerfolge zu erzielen (Lacour & Bernard-Demanze, 2015). Für die bilaterale Vestibulopathie werden drei Behandlungsziele verfolgt: Prophylaxe des progredienten Verlaufes, soweit möglich Rekonvaleszenz der vestibulären Funktion und Unterstützung der vestibulären Kompensation (Brandt et al., 2004). Weitere Forschung ist nötig, um zelluläre und molekulare Mechanismen zu identifizieren, die Kompensations- oder Substitutionsprozesse positiv beeinflussen, um als Ziel neue Therapieoptionen für vestibuläre Erkrankungen zu finden (Tighilet et al., 2019).

5. Vestibulopathie in der Tiermedizin

Ohrprobleme als Vorstellungsgrund sind in der tierärztlichen Praxis weit verbreitet. Symptome wie Kopfschütteln und unphysiologischer Nystagmus werden relativ häufig in der Kleintierpraxis beobachtet (Platt & Olby, 2014). Eine unphysiologische Haltung des Kopfes mit Neigung oder Drehung zu einer Seite sowie eine asymmetrische Ataxie in Verbindung mit Fallen, Rollbewegungen und Strabismus sind weitere Merkmale vestibulärer Defizite, die in der Allgemeinuntersuchung festgestellt werden können (Lorenz et al., 2011). Abgesehen von Hauterkrankungen die das Ohr betreffen, können vestibuläre Symptome vielfältige Ursachen besitzen (Gotthelf, 2017).

5.1. Zentrale vestibuläre Erkrankungen

Zentrale vestibuläre Läsionen bei Hund und Katze können sich in unterschiedlichsten neurologischen Defiziten äußern und in verschiedenen Kombinationen auftreten. Neben multiplen Arten von Nystagmus leiden die Tiere möglicherweise an Propriozeptionsdefiziten – abhängig vom Ausmaß der Veränderung in Hirnstamm und angrenzenden Strukturen. Die wichtigsten zentralen Ursachen, die zu Schwindelsymptomatik führen können, sind Enzephalitiden durch Staupe, Feline infektiöse Peritonitis oder granulomatöse Meningoencephalitis (Hartmann et al., 2011). Weitere Erkrankungen, die zentrale vestibuläre Syndrome auslösen können sind Infektionen, Neoplasien (meist Meningeome oder Lymphome), cerebrovaskuläre Erkrankungen oder Metronidazol-Vergiftungen (Thomas, 2000; Kent et al., 2010; Dewey & Da Costa, 2016). Behandlung und Prognose bauen wesentlich auf der Diagnose auf. Nicht selten ist eine zentrale Dysfunktion in der Veterinärmedizin prognostisch infaust (Axlund, 2005).

5.2. Periphere vestibuläre Erkrankungen

Ein Tier mit einer peripheren Vestibularerkrankung sollte in der Allgemeinuntersuchung einen normalen Geisteszustand und ein erhaltenes Bewusstsein zeigen (Nelson & Couto, 2014). Für eine weitergehende Diagnostik muss zunächst eine eingehende otoskopische Untersuchung in Narkose vorgenommen werden. Radiologische Befunde der Bulla tympanica sind, wenn möglich, zu Rate zu ziehen (Platt & Olby, 2014). In einer eingehenden neurologischen Untersuchung sind periphere vestibuläre Erkrankungen von zentralen durch eine Beurteilung des Nystagmus, der posturalen Reaktionsdefizite und möglicherweise beeinträchtigten Hirnnerven abzugrenzen (Lorenz et al., 2011).

5.2.1. Otitis media

Die Otitis media ist die häufigste Ursache für periphere vestibuläre Erkrankungen von Hund und Katze (Schunk & Averill, 1983). Hunde mit einer chronischen Otitis externa haben in über 50% der Fälle ebenso eine Otitis media. Auch bei neurologischen Ausfällen im Bereich des Kopfes muss eine Otitis media differentialdiagnostisch immer in Betracht gezogen werden. Die Erkrankung kann mit Taubheit des betroffenen Ohres sowie starken Schmerzen einhergehen. Das Trommelfell kann sowohl rupturiert als auch intakt aufgefunden werden. Häufig am Krankheitsgeschehen beteiligte Bakterien sind *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* und *Pseudomonas spp.* (Thomas, 2000). Die Therapie besteht aus einer ätiologischen Behandlung der Grunderkrankung, z.B. der atopischen Dermatitis, sowie einer topischen Medikation, meist einer antibiotischen Therapie unter Eröffnung des Mittelohrs. Um Rezidiven vorzubeugen, bedürfen betroffene Tiere einer regelmäßigen Ohrkontrolle und -pflege (Gotthelf, 2017).

5.2.2. Otitis interna

Eine Infektion des Innenohres resultiert in den meisten Fällen aus einer vorgeschrittenen Otitis media (Merchant et al., 2001). Sie lässt sich durch die charakteristische Kombination aus Dysfunktionen der Organe des Innenohrs feststellen. Bei einer vestibulären Dysfunktion muss trotz häufiger Schwierigkeiten bei der Untersuchung durch hochgradige klinische Symptomatik zwischen einem peripheren oder zentralen Geschehen unterschieden werden. Die Prognose für eine Otitis interna ist gut, sofern frühzeitig und aggressiv mit systemischen Breitbandantibiotika behandelt wird. Es ist nicht ungewöhnlich, dass leichte Beeinträchtigungen zurückbleiben (Nelson & Couto, 2014).

5.2.3. Vestibularsyndrom

Tiere mit einem Vestibularsyndrom zeigen folgende Symptome in variierender Ausprägung: Nystagmus, Positionsstrabismus, Kopfschiefhaltung, Neigung zu Kreisbewegungen und generalisierte Ataxie. Bei peripheren infektiösen Geschehen kommt häufig eine ipsilaterale Parese des N. facialis oder ein Horner-Syndrom (Miosis, Ptosis, Enophthalmus) hinzu. Auslöser dafür ist eine Infektion der räumlich nahe gelegenen VII. und VIII. Hirnnerven (Thomas, 2000). Häufigste Ursachen für ein peripheres Vestibularsyndrom sind infektiöse Prozesse oder das idiopathische (geriatriische) Vestibularsyndrom (Schunk & Averill, 1983). Auch Hypothyreodismus wird ursächlich mit dem peripheren Vestibularsyndrom in Verbindung gebracht. Es wird vermutet, dass sich Defizite im Energie-Metabolismus in einer Störung des axonalen Transportes manifestieren und auch das vestibuläre System betreffen können (Platt & Olby, 2014).

Differentialdiagnostisch sind weiterhin ototoxische Behandlungen, entzündliche Polypen (vor allem bei Katzen), Neoplasien, Traumata, kongenitale Erkrankungen und eine generalisierte Polyneuropathie abzuklären (Thomas, 2000; Venker-Van Haagen, 2005).

5.2.4. Ototoxizität

Eine Vielzahl an Medikamenten kann auch beim Tier ototoxisch wirken und die vestibuläre und/oder auditive Funktion beeinträchtigen. Uni- oder bilaterale Symptome werden beobachtet. Die meisten ototoxischen Wirkstoffe rufen eine Schädigung der Haarzellen hervor und resultieren möglicherweise in nervaler Degeneration. Ototoxizität kann durch parenterale und topische Therapie auftreten. Topische Applikation ist sicher solange das Trommelfell auf Intaktheit überprüft wurde (Lorenz et al., 2011). Ototoxische Nebenwirkungen bei Hund und Katze können durch bestimmte Antibiotika, Antiseptika, Antineoplastika, Diuretika und Schwermetalle entstehen (Mansfield, 1990). Meist treten ototoxische Effekte insbesondere bei Aminoglykosiden auf. Die vestibulären Symptome verschwinden oft bei Absetzen des hervorrufenden Medikamentes, eine Taubheit kann permanent zurückbleiben (Lorenz et al., 2011).

5.3. Bilaterale Vestibulopathie

Ein Tier mit einer bilateralen Erkrankung des vestibulären Systems zeigt keine Kopfschiefhaltung und keinen Nystagmus aufgrund der symmetrischen vestibulären Läsionen. Ein charakteristisches Schwingen des Kopfes, sowie eine breitbasige Haltung sind hingegen typisch. Zusätzlich können Anorexie oder Erbrechen auftreten (Platt & Olby, 2014). In der neurologischen Untersuchung ist außerdem das völlige Fehlen der Aufrichtungsreaktion auffällig (Vandeveldt et al., 2001). Da betroffene Tiere beim Gehen häufig Schwanken und Fallen, vermeiden sie in der Anfangsphase der Erkrankung möglichst jede Bewegung (Harvey et al., 2003). Wenn nötig, gehen sie langsam und in gekrümmter Haltung um jeder plötzlichen Bewegung zu vorbeugen (Lorenz et al., 2011). Neben den klassischen Symptomen konnte an Katzen nach einem akuten bilateralen Funktionsverlust eine Dysregulation des Blutdrucks festgestellt werden, was das generelle Wohlbefinden verringert und erklärt, wieso schnelle Kopfbewegungen vermieden werden (Mori et al., 2005). Periphere vestibuläre Erkrankungen sind häufiger der Auslöser bilateraler Vestibularsyndrome als dass zentrale Geschehen die entsprechende Symptomatik hervorrufen (Lorenz et al., 2011). Antiemetika werden zur Behandlung der klinischen Symptome kurzfristig eingesetzt. Eine weitere Therapie erfolgt erst nach Diagnose der auslösenden Erkrankung (Nelson & Couto, 2014).

6. Tiermodell

6.1. Bilaterale Labyrinthektomie

Die bilaterale Labyrinthektomie ist ein Modell, das an Ratten eingesetzt werden kann, um die Pathomechanismen der bilateralen Vestibulopathie beim Menschen und Tier zu simulieren. Die Symptome sind sehr ähnlich (Gang- und Standataxie, räumliche Desorientierung) (Ossenkopp et al., 1990; Fukasawa et al., 2009). Durch einen chemischen Eingriff oder chirurgische Entfernung der Labyrinth, werden die Gleichgewichtsorgane der Innenohre ausgeschaltet (Zwergal et al., 2016). Die chemische Labyrinthektomie führt durch transtympanale Injektion von Atoxyl-Lösung zu Schäden der Cristae und Maculae, zu Störungen der Osmolarität des Vestibularorgans und zur irreversiblen Zerstörung der vestibulären und auditiven Haarzellen (Hawkins Jr & Preston, 1975; Anniko & Wersäll, 1977; Vignaux et al., 2012). Die Labyrinthektomie resultiert in einem Verlust des vestibulären Signaleingangs in die vestibulären Kerne, einer pathologisch reduzierten Ruheaktivität und schlussendlich in gestörten vestibulo-okulären und vestibulo-spinalen Reflexen (Darlington & Smith, 2000; Maingay et al., 2000). Ratten zeigen nach einer bilateralen Labyrinthektomie chronische idiosynkratische Verhaltensweisen: Gang- und Standataxie, ausgeprägte Hyperaktivität, Kopf-Dorsiflexion, Kopfschütteln, Kreisbewegungen und fehlende Thigmotaxis (Goddard et al., 2008). Der Hyperaktivität wird von Eilles (2016) die fehlende Fähigkeit zur räumlichen Orientierung zugrunde gelegt.

6.2. Verhaltenstestung im T-Maze

Das T-Maze ist ein etablierter Verhaltenstest, der in dieser Studie eingesetzt wird um die Auswirkungen der bilateralen Labyrinthektomie in Verhaltensparametern abzubilden. Er untersucht das räumliche Orientierungsvermögen, Arbeitsgedächtnis und Lernverhalten und basiert darauf, dass Tiere eine optimale Strategie entwickelt haben, um mit möglichst wenig Aufwand ihre Umgebung zu erkunden und Futter zu finden (Wenk, 1998). Diese Strategie beruht auf dem Verhalten des spontanen Alternierens. Das bedeutet, dass eine Ratte nach dem Betreten eines Armes des T-förmigen Labyrinthes diesen Arm beim erneuten Erkunden des Labyrinths nicht auswählt, sondern ihre Entscheidung reflektiert und in den zuvor nicht besuchten Arm eintritt. So ergibt sich ein abwechselndes Betreten der Arme von rechts nach links (Tolman, 1925). Spontanes Alternationsverhalten beruht auf unterschiedlichen psychologischen Prozessen: Wahrnehmung, Aufmerksamkeit, Erinnerungsvermögen und Motivation (Richman et al., 1986). Der Wiedereintritt in einen zuvor besuchten Arm wird als Arbeitsgedächtnisfehler interpretiert und kann unterschiedliche Ursachen

haben. Assoziierte cerebrale Strukturen umfassen den Neocortex, Amygdala, Thalamus, Hypothalamus und Hippocampus (Robbins & Everitt, 1996). Als sensitiver Verhaltenstest für hippocampale Dysfunktionen wird das T-Maze häufig eingesetzt (Packard & McGaugh, 1996; Roschlau & Hauber, 2017). Studien belegen, dass Ratten mit induzierten Schwindelerkrankungen in ihren Gleichgewichts- und Orientierungsprozessen beeinträchtigt sind und somit ein schlechteres Ergebnis erzielen (Zheng et al., 2009).

7. Positronen-Emissions-Tomographie

Die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) ist eine dreidimensionale bildgebende Methode der Nuklearmedizin zur nicht-invasiven Erfassung und in-vivo-Darstellung metabolischer Prozesse beziehungsweise funktioneller Zusammenhänge. Sie beruht auf dem Prinzip der Koinzidenzmessung von Annihilationsphotonen (γ) aus dem Zerfall von radioaktiven Isotopen (Positronenemittern) in Verbindung mit Tracermolekülen. Somit wird die qualitative und quantitative Erfassung dreidimensionaler Radioaktivitätsverteilungen in Geweben ermöglicht (Ostertag, 1992). Als longitudinal einsetzbares molekulares bildgebendes Verfahren ist es eine Alternative zur histologischen Untersuchung (Schaller, 2003). Diese Methode findet klinische Anwendung zur Ergänzung diagnostischer und prognostischer Aussagen bei z.B. Tumoren, neurologischen Erkrankungen und Myokard-Krankheiten. Sie wird zudem in der prä-klinischen, translationalen und klinischen Forschung eingesetzt (Cherry et al., 2012).

7.1. Physikalische Grundlagen

7.1.1. Radioaktivität

Radioaktivität bezeichnet den spontanen Zerfall instabiler Isotope durch Abgabe von Energie in Form von elektromagnetischen Wellen oder Partikeln. Die abgegebene Energie wird in nicht-ionisierende Strahlung (z.B. ultraviolettes Licht, Mikrowellen) und ionisierende Strahlung (z.B. Röntgenstrahlung, Gammastrahlung) eingeteilt. Ionisierende Strahlung enthält genug Energie pro Quantum, um ein Elektron aus der Elektronenhülle eines Atoms oder Moleküls zu entfernen. Durch diese Ionisation entsteht ein reaktives und potentiell schädliches Ion. Ionisierende Strahlung kann Gewebe durchdringen und ermöglicht so medizinische Bildgebung und Therapien (Bailey et al., 2014).

7.1.2. Radioaktiver Zerfall

Radioaktiver Zerfall beschreibt alle Veränderungen, die bei Atomkernen von instabilen Isotopen ablaufen. Wenn im Atomkern kein ausgewogenes Verhältnis von Protonen und Neutronen besteht, ist er instabil, also radioaktiv. Er zerfällt mit einer spezifischen Zerfallskonstante und emittiert Partikel und Photonen unter Energieabgabe, bis er einen stabilen Zustand erreicht (Cherry et al., 2012). Da nur die Angabe einer Zufallswahrscheinlichkeit für den Zeitpunkt des Zerfalls angegeben werden kann, wird die Aktivität eines radioaktiven Nuklids als Zerfallsrate mit der Einheit Becquerel (Bq) angegeben. Das entspricht der mittleren Zahl der Zerfälle pro Sekunde (Schicha & Schober, 2013). Radioaktive Nuklide werden für medizinische Zwecke artifiziell durch

nukleare Aktivierung hergestellt (Bailey et al., 2014). Die medizinisch wichtigen Zerfallsarten sind in Tabelle 1 aufgelistet. Die physikalische Halbwertszeit ($T_{1/2}$) eines Radionuklides ist seine charakteristische benötigte Zeit, um zu 50% seiner ursprünglichen Aktivität zu zerfallen. Sie ist ein wichtiger Faktor bei der Auswahl eines geeigneten Radionuklides (s. Tabelle 2) (Cherry et al., 2012).

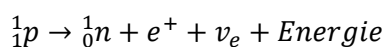
Zerfallsart	Vorgang
α - Zerfall	Atomkern emittiert Heliumkern mit hoher Energie; Gefahr unerwünschter Strahlenschäden
β^- - Zerfall	Neutron zerfällt zu Proton unter Emission von Elektron & Antineutrino
β^+ - Zerfall	Proton zerfällt zu Neutron unter Emission von Positron & Neutrino
γ - Zerfall	Angeregter Nucleus zerfällt über Emission von Gammastrahlung in seinen Grundzustand

Tabelle 1: Medizinisch wichtige Zerfallsarten

7.1.3. β^+ - Zerfall

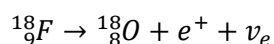
Radioaktiver β^+ - Zerfall ist ein natürlicher Vorgang, bei dem instabile Atomkerne in einen stabilen Energiezustand übergehen. Ein Proton (p) wandelt sich im Atomkern in ein Neutron (n) um und emittiert ein Positron (e^+) und ein Neutrino (ν) mit kinetischer Energie. Die Ordnungszahl verringert sich um eine Einheit, während die Anzahl der Nukleonen im Kern unverändert bleibt (Wienhard et al., 2013). Nuklide, die radioaktiven β^+ - Zerfall durchlaufen, werden auch Positronenemitter genannt. Sie werden für die funktionelle Bildgebung im PET verwendet (Podgoršak, 2006).

Allgemeine Zerfallsformel:



(Cherry et al., 2012)

Das häufigste Markierungsnuklid der Nuklearmedizin ist [^{18}F]. Es ist ein gutes Beispiel für den β^+ - Zerfall:



(Bailey et al., 2014)

7.2. Funktionsprinzip und Aufbau des Positronen-Emissions-Tomographen

Der β^+ - Zerfall lässt sich durch seine geringe Reichweite nicht extern erfassen. Er wird durch die Messung der entstehenden Vernichtungsstrahlung mit Koinzidenzdetektoren nachgewiesen und lokalisiert (Ostertag, 1992). Das emittierte Positron wird vom Gewebe innerhalb von wenigen Millimetern gebremst und geht eine zufällige Bindung mit seinem Antiteilchen, einem Elektron, ein. Das dabei entstandene Positronium wird in einer Annihilationsreaktion in die charakteristische Vernichtungsstrahlung umgewandelt (Cherry et al., 2012). Dabei entstehen zwei Annihilationsphotonen (γ), die mit einer Energie von je 511 keV unter 180° zueinander emittiert werden (Bailey et al., 2014). Nur die koinzident im Kristallring des PET detektieren Photonen führen zum Nachweis eines Positronenzerfalls und seiner Lokalisation. Sie kann unter Berücksichtigung des Ortungsfehlers von 1-2 mm zwischen Ort des Positronenzerfalls und Ort der Positronenvernichtung bestimmt werden. Das untersuchte Objekt kann zur Streuung und Absorption der Vernichtungsstrahlen führen, was eine Transmissionsmessung zur Schwächungskorrektur und Streuungskorrektur in der Rekonstruktion durch eine separate Messung mit externer Quelle oder Computertomograph notwendig macht (Ostertag, 1992). In der Praxis haben sich Ringtomographen etabliert (s. Abbildung 3). Eine Vielzahl an kleinen Detektorkristallen ist in einer Ebene ringförmig angeordnet. Jeder Einzeldetektor im Ring ist mit einigen gegenüberliegenden Detektoren in Koinzidenz geschaltet. So ergibt sich ein Gesichtsfeld (FOV, „field of view“) des Tomographen. Die koinzident registrierten Ereignisse werden der entsprechenden Koinzidenzlinie zugeordnet und als Projektionen aus parallelen Koinzidenzlinien zusammengefasst. Aus den Projektionen erfolgt die computerbasierte Rekonstruktion der Aktivitätsverteilung (Cherry et al., 2012).

μ PET-Scanner wurden zur Bildgebung kleiner Tiere entwickelt. Sie produzieren Bilder mit einer Ortsauflösung von annähernd 1,5 mm. Durch die Kombination mit anderen Modalitäten wie Computertomographen oder Magnet-Resonanz-Tomographen werden weitere anatomische Bildgebung und Auswertungen ermöglicht (Cherry & Dahlbom, 2006).

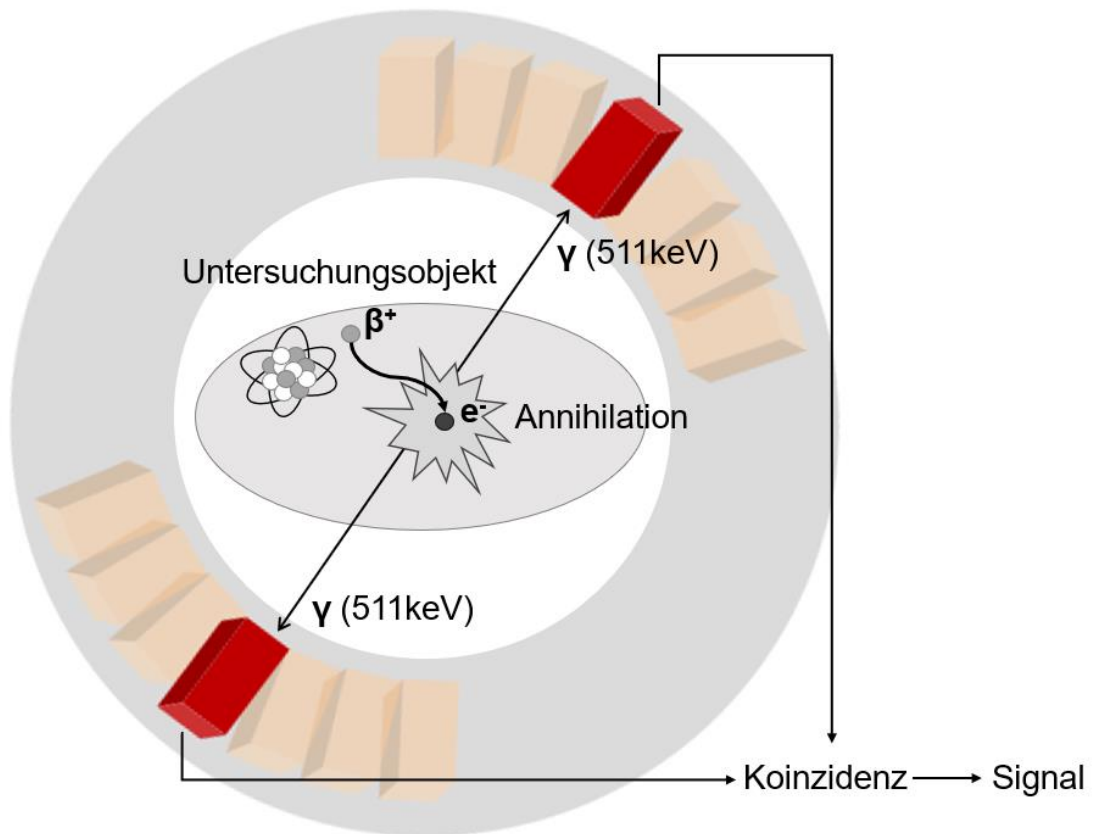


Abbildung 3: Funktionsprinzip eines Ringtomographen

Nach Injektion eines Tracers findet radioaktiver β^+ - Zerfall im Untersuchungsobjekt statt. Ein Positron (β^+) reagiert mit einem Elektron (e^-). Durch Annihilation entstehen zwei Photonen (γ), die jeweils mit einer Energie von 511 keV auf gegenüberliegende Detektorkristalle treffen (rot markiert) und als koinzident registriertes Ereignis in ein Signal verarbeitet werden.

7.3. Radiotracer

Radiotracer sind nach dem Arzneimittelgesetz radioaktive Arzneimittel. Sie sind oder enthalten radioaktive Stoffe, die ionisierende Strahlen spontan aussenden und haben die Bestimmung aufgrund dieser Eigenschaften angewendet zu werden (§4 Abs. 8 AMG). Damit eine externe Messung der Radioaktivitätsverteilung möglich ist, ist die Emission von durchdringender Strahlung Grundvoraussetzung für ein Radiotracer-Isotop. Weiterhin darf die radioaktive Markierung das biochemische Molekül in seinem metabolischen Verhalten nicht verändern (Ostertag, 1992). Positronen-emittierende Isotope haben in der Medizin eine relativ geringe Halbwertszeit, was die ortsnahe Herstellung in einem Zyklotron unentbehrlich macht. Die häufigsten PET-Isotope sind Fluor-18, Kohlenstoff-11, Stickstoff-13 und Sauerstoff-15. Fluor-18 (^{18}F) ist gut etabliert und lässt sich problemlos in ein organisches Molekül einbringen (s. Tabelle 2). Eine Halbwertszeit von etwa 110 Minuten vereinfacht die Handhabung und es erzielt durch seine kurze Positronenreichweite im Gewebe die höchste Bildqualität aller Positronenstrahler (Miller et al., 2008).

7.3.1. Herstellung ^{18}F -gebundener Tracer

Zur Produktion von Radionukliden wird für klinische Zwecke ein Zyklotron als Teilchenbeschleuniger eingesetzt. Hier werden z.B. Protonen auf ein sogenanntes Target-Material gelenkt, sodass sie eine nukleare Reaktion auslösen, die in der Formation des Radionuklids resultiert. Bei diesem Prozess fängt der Nukleus des Targets ein Proton (p) ein und gibt sofort ein Neutron (n) frei. Durch die Kernreaktion ($^{18}\text{O}(\text{p},\text{n})^{18}\text{F}$) kann so ein nukleophiles ^{18}F Flouridanion gewonnen werden (Cherry et al., 2012). Das entstandene ^{18}F Fluoridanion verlässt über abgeschirmte Leitungen das Zyklotron in eine heiße Zelle, wo das Radionuklid an ein organisches Molekül gebunden wird, um sich je nach Anwendungszweck die entsprechende Pharmakokinetik und biologische Affinität zu Nutze zu machen (Bauser & Lehmann, 2012). Das entstandene Molekül wird als Radiotracer (englisch: trace = Spur/Indikator) bezeichnet. Die Herstellung von ^{18}F -gebundenen Radiotracern findet routinemäßig durch nukleophile Substitution statt. Dafür müssen das umzusetzende Substratmolekül ^{18}F sowie eine geeignete Abgangsgruppe vorhanden sein, die durch das ^{18}F ersetzt wird. Nach Aufreinigung, Formulierung in physiologischer Injektionslösung, Sterilfiltration und Qualitätskontrolle kann der gewonnene Radiotracer angewandt werden (Cherry et al., 2012). Der meist genutzte PET-Tracer ist ^{18}F Fluorodeoxyglukose (^{18}F FDG) zur Visualisierung des regionalen cerebralen Glukoseverbrauchs (Podgoršak, 2006). Im Tierversuch wird der Radiotracer ^{18}F FDG am häufigsten eingesetzt (Kisely et al., 2001). Mit seinen Eigenschaften als Glukoseanalogon wird ^{18}F FDG in die Zelle

eingeschleust, phosphoryliert und kann dort mittels PET detektiert werden (Ganong, 1999). Limitationen der Einsetzbarkeit von [^{18}F]FDG entstehen durch Entzündungen die den Glukoseumsatz erhöhen, Abhängigkeiten vom Blutzuckerspiegel oder eine hohe Aufnahme (Uptake) in Strukturen, die das Untersuchungsziel umgeben (Hintergrundaktivität). Die spezifischere Darstellung der Plastizitäts- und Kompensationsmechanismen kann durch andere Radiotracer erfolgen. Dazu gehören [^{18}F]Flutriciclamide ([^{18}F]GE180) und [^{18}F]Fluorothymidin ([^{18}F]FLT) zur Darstellung von cerebralen aktivierten Mikrogliazellen und Zellproliferation.

Radioliganden	Indikatoren	T _{1/2} in min
[^{18}F]FDG	Glukose-Metabolismus	109,71
[^{15}O]H ₂ O	Blutfluss	2,073
[^{11}C]Methionin	Aminosäure-Metabolismus	20,38
[^{18}F]GE180	Mikrogliaaktivierung	109,71
[^{18}F]FLT	Zellproliferation	109,71

Tabelle 2: Beispiele kurzlebiger Tracer für das PET (nach Schaller, 2003)

7.3.2. 3'-Deoxy-2'-[^{18}F]Fluorothymidin ([^{18}F]FLT)

[^{18}F]FLT ist ein Tracer, der beim Menschen zu Darstellung von Tumoren in Bereichen mit hoher Hintergrundaktivität Verwendung findet (z.B. Gehirn). Er wird zur in-vivo-Darstellung von Proliferationsprozessen angewandt (Shields et al., 1998). Die biphasische Aufnahme von [^{18}F]FLT in die Zelle wird über seine Phosphorylierung durch das Enzym Thymidinkinase1 (TK1) eingeleitet. TK1 wird während der S-Phase der Zellteilung exprimiert und ermöglicht somit über die korrelierende [^{18}F]FLT-Aufnahme eine Auslesung der Zellproliferationsrate. Die [^{18}F]FLT-Anreicherung konnte als zuverlässiger Messwert für DNS-Syntheseprozesse bestimmt werden (Rasey et al., 2002; Schwartz et al., 2003). Nach der Phosphorylierung ist das Molekül innerhalb der Zelle gefangen und kann im PET visualisiert werden (Kong et al., 1992) (s. Abbildung 4). Somit ist mittels [^{18}F]FLT- μ PET eine nicht-invasive Messung von Proliferation in den neurogenen Regionen des Hirns möglich (Rueger et al., 2010). Nicht verstoffwechseltes [^{18}F]FLT wird glucuronidiert und schnell renal ausgeschieden (Marchand et al., 2016). Rueger et al. (2010) zeigten im Rattenmodell, dass das [^{18}F]FLT- μ PET die Mobilisierung von neuronalen Stammzellen durch pharmakologische Stimuli auch außerhalb der neurogenen Nischen darstellen kann. Tamura et al. (2016) konnten durch die Kombination mit Probenecid eine deutliche Verbesserung der cerebralen Signalstärke von [^{18}F]FLT erzielen. Probenecid ist als Medikament zur

Behandlung von Gicht zugelassen. Sein Effekt auf die Anreicherung von [^{18}F]FLT beruht auf der Inhibition der Transporter ABCC und OAT3 an der Blut-Hirn-Schranke. Eine Nutzung von [^{18}F]FLT zur Visualisierung der neuronalen Stammzellmobilisierung bleibt aber aufgrund eines relativ geringen Signal-zu-Hintergrundverhältnisses eine Herausforderung (Rueger et al., 2010; Tamura et al., 2016). Es bleibt zu berücksichtigen, dass mittels [^{18}F]FLT- μPET keine Bestimmung des Phänotyps markierter Zellen möglich ist.

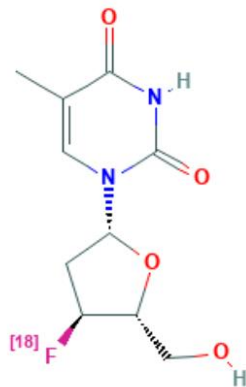


Abbildung 4: Strukturformel von [^{18}F]FLT (Kim et al., 2015)

Dieses Molekül besteht aus einem Thymidinanalogon, an dessen Zuckergruppe das [^{18}F]-Isotop durch nukleophile Substitution einer OH-Gruppe gebunden wurde.

7.3.3. [^{18}F]Flutriciclamide ([^{18}F]GE180)

[^{18}F]GE180 ist ein Tracer dritter Generation, der als Ligand an TSPO (18 kDa Translokator-Protein) bindet (s. Abbildung 5) (Fan et al., 2016). TSPO ist ein gut etablierter Biomarker für aktivierte Mikrogliazellen, Entzündungsreaktionen und Verletzungen des ZNS (Chen & Guilarte, 2008; Rupprecht et al., 2010). Er findet sich primär in der äußeren Mitochondrienmembran von steroid-synthetisierenden Zellen und hat die Funktion Cholesterol zur Steroidsynthese in die Mitochondrien zu transportieren (Papadopoulos et al., 1997). Im ZNS wird TSPO von Mikroglia und Astrozyten ausgeschüttet (Chen & Guilarte, 2008). Bei Verletzungen, Entzündungen oder neurodegenerativen Erkrankungen wird die Expression von TSPO im ZNS erhöht. Nach Neurotoxin-induzierten Schäden wurde im Hippocampus der Ratte eine erhöhte TSPO-Expression von Mikroglia und Astrozyten nachgewiesen (Kuhlmann & Guilarte, 2000). Eine Rückregulierung tritt erst ein, wenn eine etwaige Nervenregeneration abgeschlossen ist. Das führt zu der Vermutung, dass TSPO in Verbindung mit

Reparaturprozessen steht (Mills et al., 2005). Der Radiotracer [^{18}F]GE180 wird aufgrund seines guten Signal-zu-Hintergrundverhältnisses in Verbindung mit hoher Bindungsaffinität zu TSPO in Forschung und Diagnostik neuroinflammatorischer Erkrankungen eingesetzt (Wadsworth et al., 2012). Zwergal et al. (2017) berichten von reaktiver Neuroinflammation, die durch unilaterale Schädigung des peripheren vestibulären Systems hervorgerufen wird. Ein erhöhter [^{18}F]GE180-Uptake im ipsiläsionalen vestibulären Kern und N. vestibularis nach unilateraler Labyrinthektomie im Rattenmodell bis 15d post OP wurde beobachtet und histologisch validiert. Eine potentiell vorteilhafte Wirkung von Mikrogliaaktivierung, beziehungsweise [^{18}F]GE180-Uptake, wurde aufgrund einer positiven Verhaltenskorrelation für die funktionelle Wiederherstellung peripherer Läsionen vermutet (Zwergal et al., 2017).

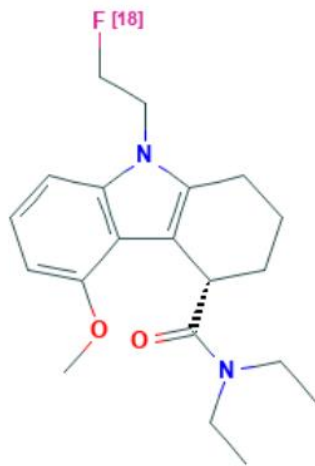


Abbildung 5: Strukturformel von [^{18}F]GE180 (Kim et al., 2015)

Durch die hohe Bindungsaffinität dieses Moleküls zu TSPO, kann mittels des gebundenen [^{18}F]-Isotops die TSPO-Expression visualisiert werden.

7.4. PET-Bildgebung des vestibulären Systems

Laut Brandt (2013) gibt es keinen primären vestibulären Cortex, sondern multisensorielle Areale im Gehirn, die auf den drei sensorischen Systemen zur Orientierung des Körpers (Visus, vestibuläres System und Propriozeption) basieren. So ergeben sich in der PET-Bildgebung gesunder Probanden vernetzte Areale, die durch Aktivierung und Deaktivierung die komplexe Prozessierung dynamischer vestibulärer Impulse widerspiegeln. Aufgrund der örtlichen Auflösung können bildgebende Aktivitätsstudien zuverlässig Muster im Cortex, Subcortex und Cerebellum darstellen. Der Hirnstamm ist schwieriger abzubilden. Bei bilateralen vestibulären Schäden konnte mittels [^{18}F]FDG ein verändertes cortikales Aktivierungsmuster in multisensorischen Arealen nachgewiesen werden (Dieterich & Brandt, 2008). In einer Studie von Dieterich

et al. (2007) wurde an Patienten mit vestibulären Erkrankungen eine deutliche Aktivierung des primär visuellen Cortex festgestellt, was für eine Substitution des vestibulären Signalverlusts spricht. Im Rattenmodell konnte ein verringerter Glukosemetabolismus in den vestibulären Kernen bis 15d post OP sowie ein erhöhter Glukosemetabolismus im Hippocampus ab 30d post OP festgestellt werden (Eilles, 2016). Diese Ergebnisse weisen auf eine partielle Kompensation der Schwindelerkrankung hin. Das PET-Signal im Hippocampus wurde, in Korrespondenz zu den Verhaltensergebnissen, als eine wieder zunehmende Fähigkeit zur Orientierung interpretiert (Eilles, 2016).

8. Immunhistochemische Untersuchung mittels 5-Bromodeoxyuridine (BrdU)

BrdU wurde von Gratzner (1982) zu einem der wichtigsten Marker für mitotische Zellen in Studien über adulte Neuroneogenese erklärt (s. Abbildung 6). Die Substitution einer endogenen DNS-Base ermöglicht die spezifische Markierung sich teilender Zellen und entspricht dem [^{18}F]FLT-Stoffwechsel (Rueger et al., 2010). Während der S-Phase der mitotischen Zellteilung, wird BrdU anstatt Thymin an ein Adenin-Nukleotid gebunden (Meyn et al., 1973). Durch die Korrelation der Aufnahme von [^{18}F]FLT mit der S-Phase der Zellproliferationsrate, entspricht die aufgenommene Menge an BrdU auch dem [^{18}F]FLT-Uptake. BrdU wird jedoch in-vivo appliziert und ex-vivo mittels primärer Antikörper im Gewebe detektiert und mit einem sekundären Antikörper markiert. Dieser ist an einen fluoreszierenden Farbstoff gebunden, der immunhistochemisch dargestellt werden kann (Kee et al., 2002). Eine BrdU-positive Zelle zu detektieren, bedeutet, dass sich diese in dem Moment der Injektion geteilt hat, da BrdU eine kurze biologische Halbwertszeit aufweist. BrdU wird nicht in signifikanten Mengen bei Reparaturmechanismen oder in sterbende Neuronen aufgenommen (Bauer & Patterson, 2005).

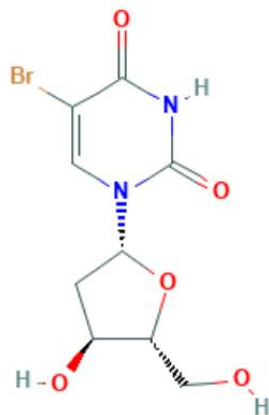


Abbildung 6: Strukturformel von BrdU (Kim et al., 2015)

Dieses Molekül ist ein mit Brom halogeniertes Thymidin-Analogon, das kompetitiv in die DNS inkorporiert wird und mittels immunhistochemischer Markierung visualisiert werden kann.

9. Arbeitshypothesen

Das Ziel dieser Forschungsarbeit war die Identifikation neuer translationaler Therapieansätze für bilaterale vestibuläre Erkrankungen. Um dieses Ziel zu erreichen, ist es von größter Bedeutung die komplexen Plastizitätsprozesse des cerebralen vestibulären Netzwerkes nach einer vestibulären Schädigung besser zu verstehen. Zu diesem Zweck wurden μ PET-Scans mit den Tracern [^{18}F]FLT und [^{18}F]GE180 mit korrespondierenden Verhaltensuntersuchungen an Ratten nach bilateralem vestibulärem Schaden durchgeführt. Eine histologische Validierung des Tracers [^{18}F]FLT erfolgte mittels BrdU-Markierung. Korrelationsanalysen der bildgebenden Parameter mit Verhaltenstests des Lokomotions- und Orientierungsverhaltens wurden durchgeführt um die Relevanz der ermittelten Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung für die funktionelle Regeneration nach bilateralem vestibulärem Schaden weiter zu untersuchen.

Folgende Arbeitshypothesen wurden überprüft:

1. Die Zellproliferation ist nach bilateraler Labyrinthektomie im Hippocampus gehemmt. Die reduzierte Zellproliferation (gemessen mittels [^{18}F]FLT- μ PET) korreliert mit einer persistierenden Orientierungsstörung (im T-Maze). Die Zellproliferation in den vestibulären Kernen ist nach bilateraler Labyrinthektomie erhöht und geht einer partiellen Verbesserung der posturalen Kontrolle voraus.
2. Die bilaterale Labyrinthektomie induziert eine Mikrogliaaktivierung in vestibulo-hippocampalen Netzwerken sowie in den vestibulären Kernen. Das Ausmaß der Mikrogliaaktivierung im Hippocampus korreliert mit der Orientierungsfähigkeit und die Mikrogliaaktivierung in den vestibulären Kernen mit der posturalen Kontrolle im Zeitverlauf.
3. In den vestibulären Kernen besteht eine positive Korrelation zwischen der Mikrogliaaktivierung und Zellproliferation (gemessen mittels [^{18}F]FLT- und [^{18}F]GE180-Uptake).

III. MATERIAL UND METHODEN

Die vorliegende Dissertation wurde im Rahmen des vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Forschungsprojektes „Structural and functional central vestibular plasticity: from understanding of mechanisms to therapeutic targets“ (SRGII-1) erstellt. Die wissenschaftliche Bearbeitung erfolgte in Kooperation mit dem Deutschen Schwindel- & Gleichgewichtszentrum (DSGZ) und der Klinik für Nuklearmedizin der LMU München.

Alle durchgeführten Experimente wurden in dem Tierversuch mit Aktenzeichen ROB-55.2-2532.Vet_02-16-93 durch die Regierung von Oberbayern genehmigt.

1. Material

1.1. Chemikalien

5-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)	Sigma-Aldrich, MO. USA
Antikörper (primär): Rat monoclonal BrdU antibody	Abcam, Cambridge, UK
Antikörper (sekundär): Goat anti-Rat IgG (H+L) Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 488	ThermoFisherScientific, Waltham, USA
Aqua ad injectabilia	Braun, Melsungen
Aqua-Poly/Mount, Mounting Medium	Polysciences, Warrington, USA
Bupivacainhydrochlorid, Carbostesin® 0,25%	Sigma-Aldrich, Steinheim
Bupivacainhydrochlorid Monohydrat	Sigma-Aldrich, München
Dexpanthenol, Bepanthen® 5%, Augensalbe	Bayer-Vital, Leverkusen
Dinatriumhydrogenphosphat, Na ₂ HPO ₄	Roth, Karlsruhe
Ethanol 96%	Roth, Karlsruhe
Ethylenglycol	Roth, Karlsruhe
Farbstoff, Molecular Probes™ DAPI	ThermoFisherScientific, Waltham, USA
Glycerol	Roth, Karlsruhe
Goat Serum (NGS)	ThermoFisherScientific, Waltham, USA
Isofluran, Isofluran CP®	CP-Pharma, Burgdorf
Kaliumdihydrogenphosphat, KH ₂ PO ₄	Roth, Karlsruhe
Ketaminhydrochlorid 10%, Injektionslösung	MEDISTAR, Ascheberg
Marbofloxacin, Marbocyl®	Vétoquinol, Ravensburg
Meloxicam, Metacam®	Boehringer Ingelheim, Ingelheim
Natriumchlorid, NaCl ≥99,5%	Roth, Karlsruhe

Natriumchloridlösung, NaCl 0,9%	Fresenius Kabi, Bad Homburg
Natriumhydrogen-4-aminophenylarsonat, Atoxyl	TCI Europe n.v., Zwijndrecht
Natriumdihydrogenphosphat, NaH ₂ PO ₄	Roth, Karlsruhe
Natriumhydroxid, NaOH	Sigma-Aldrich, München
Natriumphosphat, steriles Konzentrat	Braun, Melsungen
Natriumtetraborat, Na ₂ B ₄ O ₇	Roth, Karlsruhe
Paraformaldehyd, PFA	Sigma-Aldrich, München
Probenecid	Sigma-Aldrich, MO. USA
D-Saccharose	Roth, Karlsruhe
Salzsäure, HCl 37% rauchend	Roth, Karlsruhe
Tissue-Tek® Cryomold Intermediate	Sakra, CA. USA
Triton X-100	ThermoFisherScientific, Waltham, USA
Xylazinhydrochlorid 20 mg/ml, Injektionslösung	MEDISTAR, Ascheberg

1.2. Geräte

µPET-Scanner, Inveon	Siemens, Erlangen
Analysenwaage, Typ CP 224S	Sartorius, Göttingen
Analysenwaage, Typ CPA26P	Sartorius, Göttingen
Analysenwaage, Typ TE4104	Sartorius, Göttingen
Deckgläser, 24x50 cm	Roth, Karlsruhe
Dosimeter-Ring	AWST, Helmholtz Zentrum München
Körper-(OSL-)Dosimeter	AWST, Helmholtz Zentrum München
Fluoreszenzmikroskop Axio Observer Z1	Zeiss, Jena
Gefriermikrotom, CryoStar NX70	ThermoFisherScientific, MA USA

Nahtmaterial, Ethicon 0,5 metric	Henry Schein Vet, Stuttgart
Narkosegerät, Isofluran Vet. Med. Vapor	Drägerwerk, Lübeck
Objektträger, 76x26 cm	Hecht Glaswarenfabrik GmbH, Sondheim
Operationsmikroskop, Typ Stemi DV4 Spot	Zeiss, Göttingen
pH-Meter SevenEasy	Mettler-Toledo GmbH, Gießen
Peristaltikpumpe DOSE IT P910	INTEGRA Biosciences GmbH, Biebertal
Präzisionswaage, Typ 440-49N	Kern, Balingen
T-Maze	Med Associates Inc., VT. USA
Ultraschallreiniger, Bandelin Sonorex RK52H	PCE, Meschede

1.3. Programme

EthoVision XT	Version 13, Noldus Information Technology, Wageningen, NL
IBM SPSS Statistics 25	Version 25, IBM Corporation, USA
Inveon™ Acquisition Workplace	Version 1.5.0.28 (Bildakquisitionsprogramm) Siemens Medical Solutions, Knoxville, TN USA
PMOD	Version 3.903 (Biomedical Image Quantification), PMOD Technologies LLC, Zürich, CH
SPM	Version 8, „statistical parametric mapping“, Wellcome Trust Centre for NeuroImaging, Institute of Neurology, University College London, UK
Zeiss ZEN	Version 2, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Oberkochen

1.4. Lösungen

Atoxyl-Lösung 10%	100 mg Natriumhydrogen-4-aminophenylarsonat in 1 ml Aqua ad inject. lösen
<hr/>	
BrdU-Lösung (5 mg/ml)	50 mg BrdU in 10 ml NaCl lösen
<hr/>	
Bupivacain-Lösung 20%	200 mg Bupivacainhydrochlorid Monohydrat in 1 ml Lösung 96% Ethanol mit Aqua ad inject. (3:1) in Ultraschallbad bis Lösung aufklart
<hr/>	
Paraformaldehyd, PFA 8%	800 ml Aqua dest. auf 60-70 °C erwärmen 80 g Paraformaldehyd dazugeben 1N NaOH tropfenweise zugeben bis Lösung aufklart Abkühlen und Filtrieren mit Aqua dest. auf 1 l auffüllen in dunklem Gefäß lagern
Paraformaldehyd, PFA 4%	PFA 8% mit Phosphatpuffer (Soerensen) 1:1 verdünnen
<hr/>	
Phosphatgepufferte Salzlösung, PBS (10x)	2,6 g Natriumdihydrogenphosphat mit 14,4 g Dinatriumhydrogenphosphat und 87,5 g Natriumchlorid in 1 l Aqua dest. lösen
PBS (1x)	PBS (10x) mit Aqua dest. 1:9 verdünnen
<hr/>	
Phosphatpuffer nach Soerensen pH 7,4	182 ml der Lösung A und 818 ml der Lösung B mischen Lösung A: 9,078 g Kaliumdihydrogenphosphat in 800 ml Aqua dest. lösen auf 1 l auffüllen Lösung B: 11,876 g Dinatriumhydrogenphosphat in 800 ml Aqua dest. lösen auf 1 l auffüllen

Probenecid-Lösung (50 mg/ml)	1000 mg Probenecid 1N NaOH tropfenweise zugeben bis Lösung aufklart mit Natriumphosphatpuffer für Injektionszwecke auf pH-Wert 7,4 einstellen mit Aqua ad inject. auf 20 ml auffüllen
---------------------------------	---

Saccharose-Lösung 30%	6 g Saccharose mit PBS bis auf 20 g auffüllen
-----------------------	---

Lösungen für histochemische Färbungen

Cryoprotektive Aufbewahrungslösung	150 ml Glycerol mit 150 ml Ethylenglycol, 150 ml Aqua bidest. und 50 ml PBS (10x) mischen
Boratpuffer	20,1 g Natriumtetraborat in 1000 ml Aqua dest. lösen mit Salzsäure auf pH 8,5 einstellen
PBS-Triton X-Gemisch	2,5 ml Triton X mit 47,5 ml PBS mischen
Primäre Antikörper	BrdU-rat (1:500)→ 2 µl pro Well, NGS 100 µl pro Well mit PBS-Triton X auf 1000 µl pro Well auffüllen
Salzsäure, HCl	16,75 ml Aqua dest. mit 8,25 ml 37%iger Salzsäure (rauchend) mischen und in Alufolie lichtgeschützt aufbewahren (Verhältnis 67:33)
Sekundäre Antikörper	1 µl pro Well rat-488 (grün), 1 µl DAPI, mit PBS-Triton X auf 1000 µl pro Well auffüllen

2. Tiermodell

Auf eine einwöchige Habituationsphase folgend wurden die Tiere in den Versuch aufgenommen und durchliefen zunächst ein Training für den Verhaltenstest im T-Maze. Nach der Durchführung eines Baseline-Scans (Woche 0) im μ PET als Vergleichsmessung für den Tracer $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$, fand die chemische Labyrinthektomie statt. Anschließend waren die Tiere insgesamt neun Wochen im Tierversuch. Während dieser Zeit wurde ihr Verhalten dreimal wöchentlich untersucht und es wurden wöchentlich zwei μ PET-Messungen – eine mit dem Tracer $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ und ab Woche 2 post OP zusätzlich eine mit dem Tracer $[^{18}\text{F}]\text{GE180}$ – durchgeführt. Korrespondierend zu den $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ -Messtagen erfolgte die Perfusion zur Gewebsentnahme an jeweils drei Tieren mit bilateraler Labyrinthektomie und drei Sham-operierten Tieren nach vorausgegangener Applikation von BrdU in den Wochen 1, 3, 4, 5, 7 und 9 post OP (s. Abbildung 7). Eine Verblindung während der Untersuchungen war aufgrund der eindeutigen Krankheitssymptomatik nicht möglich. Einflussnahmen auf die Untersuchungsergebnisse wurden soweit möglich durch standardisierte Protokolle aller Abläufe und die Auswertung der Ergebnisse erst nach Abschluss des Versuchsblocks gewährleistet.

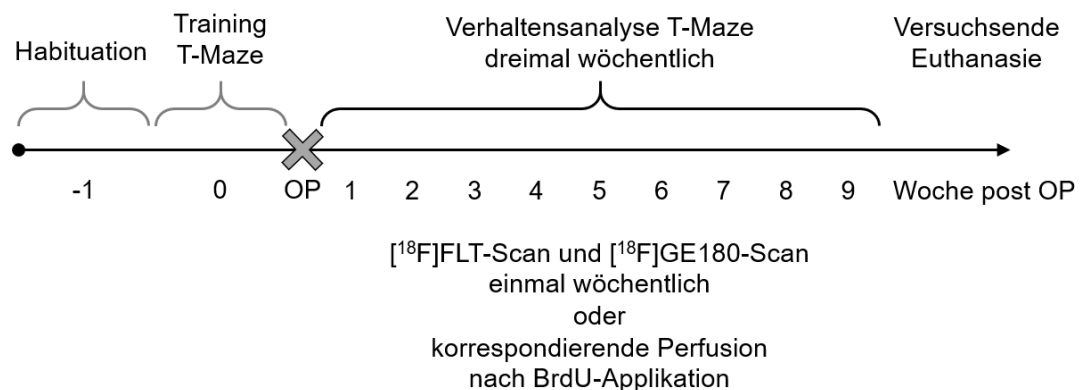


Abbildung 7: Übersicht Tierversuchsvorhaben

Auf die Habituation und das Training im T-Maze folgten neun Untersuchungswochen post OP.

2.1. Tierhaltung und Versuchstiere

Männliche Albino Ratten vom Stamm Sprague-Dawley wurden in einem Alter von acht bis neun Wochen und einem Gewicht von etwa 350 g aus einer spezifiziert pathogen-freien Zucht der Firma Charles River GmbH (Sulzfeld) bezogen. Ihre Haltung erfolgte

in Gruppen von zwei bis drei Ratten pro Käfig (GR 1800 Doppel Decker) in einem Individually-Ventilated-Cage-System (IVC) der Firma Tecniplast. Bei einer 50-fachen Käfigluftwechselrate pro Stunde betrug die Luftgeschwindigkeit in den IVCs stets weniger als 0,2 m/s. 60 Lux wurden in den Käfigen bei einem 12-stündigen hell-dunkel-Rhythmus nicht überschritten. Eine tägliche Kontrolle der Luftfeuchtigkeit und Temperatur erfolgte, um die Empfehlungen der GV SOLAS von 55 ± 10 % rH und 22 ± 2 °C einzuhalten. Gemäß den FELASA-Richtlinien fand vierteljährlich eine Hygieneüberwachung mittels „dirty-bedding“-Sentinels statt. Trinkwasser über Nippeltränken sowie Alleinfutter (Ssniff R/M Haltung) stand den Tieren ad libitum zur Verfügung. Die Einstreu bestand aus entstaubtem und sterilisiertem Weichholzgranulat (Ssniff Abedd Espen). Zur Beschäftigung erhielten die Ratten Nagehölzer (Ssniff Abedd Espen), Pappmachée-Häuser (datesand, „rat corner homes“) und entkeimtes Heu (LIGNOCEL hay, Rettenmaier und Söhne). Einmal pro Woche wurden die Tiere in saubere Käfige umgesetzt, im gleichen Turnus erfolgte die Reinigung und Desinfizierung des Tierstalls. Eine Beurteilung des Gesundheitszustandes der Tiere wurde täglich durchgeführt und in Score-Sheets festgehalten.

2.2. Operativer Eingriff

2.2.1. Anästhesie und Analgesie

Die Narkoseeinleitung erfolgte bei Eingriffen mit 3% Isofluran und wurde mit 1,8%-Konzentration erhalten. Trägergas war Sauerstoff mit einer Durchflussrate von 2 l/min. Das Tier wurde zur Narkoseeinleitung in eine rote Acrylglasbox verbracht. Nach Erreichen des Stadiums der chirurgischen Toleranz erfolgte der Eingriff. Dafür wurde das Tier auf eine OP-Unterlage mit Wärmematte (Beurer) gelagert, blieb über eine Nasenkammer mit der Narkoseanlage verbunden und erhielt Dexpanthenol-Salbe (Bepanthen®, 5%) als Schutz der Cornea vor Austrocknung. Die Narkosetiefe wurde regelmäßig anhand von Zwischenzehenreflex, Lidschluss und Atmung überprüft. Für die perioperative Schmerzbehandlung und zur Infektionsprophylaxe, erfolgte 30 Minuten vor Beginn der OP subkutan eine Injektion von Meloxicam (Metacam®) und Marbofloxacin (Marbocyl®), jeweils in einer Dosierung von 2 mg/kg. Ein Bolus von 2,5 ml körperwarmer 0,9%-isotonischer Natriumchlorid-Lösung pro Flanke wurde zur Kreislaufstabilisierung subkutan injiziert. Die analgetische und antibiotische Behandlung erfolgte täglich über 3d post OP.

2.2.2. Chemische Labyrinthektomie

Die Vorbereitung der chemischen Labyrinthektomie bestand aus Rasur und Desinfektion des OP-Feldes sowie einer lokalanästhetischen Versorgung mittels einer

subkutanen Injektion von Bupivacainhydrochlorid (Carbostesin®, 0,25%) in das OP-Feld. Paramedian und dorsal des Ohres wurde eine 1 cm lange Hautinzision gesetzt (Einmal-Skalpell, Braun). Unter Schonung des Nervus facialis erfolgte die Freilegung des Meatus acusticus externus durch stumpfe Präparation zwischen den seitlichen Nackenstreckern und dem Musculus temporalis (s. Abbildung 8a). Etwaige Wundflüssigkeit wurde mit Saugtupfern aufgenommen (Sugi®, Kettenbach). Das weitere Vorgehen wurde unter operationsmikroskopischer Sichtkontrolle mit 20x Vergrößerung (Stemi DV4 Spot, Zeiss) durchgeführt. Die häutige Membran des äußeren Gehörgangs sowie das Trommelfell wurden mit einer Pinzette perforiert. Zur kurzfristigen Deafferentierung der Haarzellen erfolgte eine transtympanale Injektion von 0,2 ml 20%-iger Bupivacain-Lösung kaudal des Hammerschafts. Über 2 Minuten wurde die Lösung kontinuierlich appliziert und aspiriert um eine optimale Verteilung zu gewährleisten. Nach Ablauf dieser Zeit wurde die Lösung komplett aspiriert und der Vorgang wurde mit 0,2 ml 10%-iger Atoxyl-Lösung wiederholt (s. Abbildung 8b). Der Verschluss des Operationsfelds erfolgte mittels drei bis vier Knopfheften (TF6, 6,5 mm, 0,5 metric, Ethicon). Der gesamte Ablauf wurde bei der bilateralen chemischen Labyrinthektomie auf der contralateralen Seite in einer Narkose wiederholt, sodass beide Gleichgewichtsorgane deafferentiert wurden. Um die operativ bedingten Effekte von den vestibulären Prozessen zu unterscheiden, erfolgte ein gleichartiger Eingriff der Kontrollgruppe (Sham) mit dem Unterschied, dass die ototoxischen Substanzen durch Natriumchlorid-Lösung ersetzt wurden. Unter Beobachtung erwachte das Tier in einer mit Zellstoff gepolsterten luftdurchlässigen Box. Erst nach dem vollständigen Erwachen und Kontrolle des OP-Erfolges, wurde es zurück in seinen Heimatkäfig verbracht. Die Zugabe von Wasser-Gelpads in den Käfig und das Einweichen des pelletierten Futters erfolgte je nach Zustand des Tieres bis zu 7d und um eine erleichterte Aufnahme zu gewährleisten.

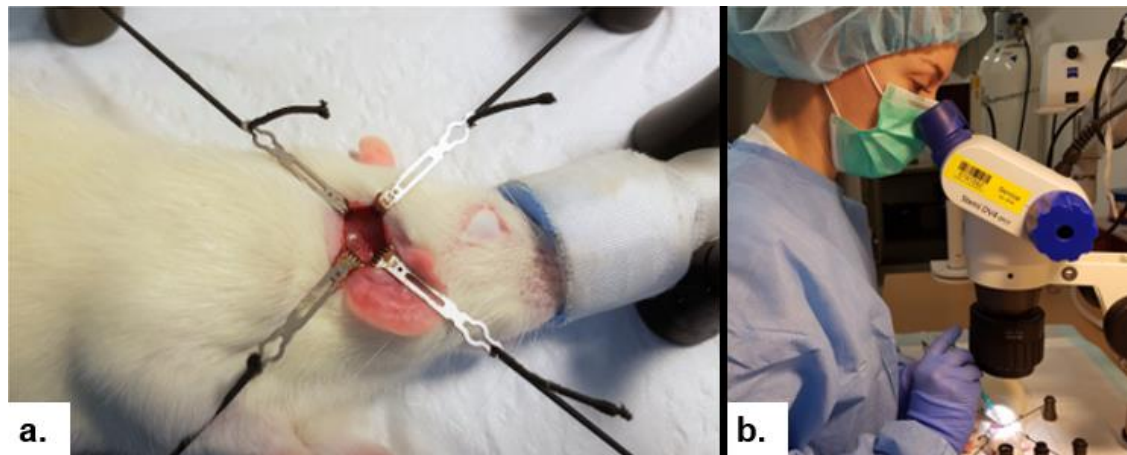


Abbildung 8: Durchführung der chemischen Labyrinthektomie

- a. OP-Feld nach Präparation des äußeren Gehörgangs
- b. Injektion ototoxischer Substanzen unter mikroskopischer Sichtkontrolle

Als Abbruchkriterien wurden aufgrund ihrer Tierschutzrelevanz und möglichen Auswirkungen auf die Versuchsergebnisse folgende Symptome gewertet:

1. Verlust des Körpergewichts von über 15%
2. Hornhautulcera (Beeinträchtigung des Lidschlusses durch perioperative Läsion des N. facialis)
3. Ausbleiben der typischen Schwindelsymptomatik (Blutung umliegender Gefäßstrukturen, die die Wirkung von Bupivacain und Atoxyl an den Haarzellen verhindern)
4. Abnorme Veränderungen des Verhaltens (Selbstisolation, Apathie, Stereotypen, Automutilation)
5. Abnorme Veränderungen des Allgemeinzustandes (Atembeschwerden, Konvulsionen, Paresen)

2.3. Verhaltensanalyse

Das klinische Verhalten wurde einmal wöchentlich auf einer offenen Fläche beobachtet und aufgezeichnet. Die Testung im T-Maze fand dreimal wöchentlich statt. Um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten wurde die Testung unter standardisierten Bedingungen und Testungsprotokoll durchgeführt: die mit den Tieren vertrauten Experimentatoren wogen, untersuchten und testeten alle Ratten unter absoluter Ruhe und zwischen 07:00 und 10:00 Uhr. Die Tiere wurden stets vor etwaigen μ PET-Scans getestet um postnarkotische Einflüsse zu vermeiden. Eine Verblindung der Gruppen war aufgrund der ausgeprägten Krankheitssymptomatik nicht möglich.

2.3.1. T-Maze

Die Untersuchung im T-Maze diente der Evaluierung des räumlichen Orientierungs- und Lernverhaltens der Ratten. Durch Videoauswertungen konnten zusätzlich Lokomotionsparameter aufgezeichnet werden. Die schwarz beklebte Lauffläche des T-Maze (Med Associates Inc.) war 40 cm vom Untergrund erhöht und 11,5 cm breit. Sie wurde von durchsichtigen Acrylwänden und -deckeln mit Luftlöchern in einer Höhe von 16,5 cm verschlossen. Auf die 24,8 cm lange Startbox folgte die 56 cm lange zentrale Lauffläche und die beiden um 90° abgewinkelten, 30,1 cm langen Zielarme. Am Ende beider Zielarme wurde jeweils ein Belohnungsbecher platziert. Die Einheiten konnten mittels Guillotine-Türen verschlossen werden (s. Abbildung 9). Um einen optimalen Testablauf zu gewährleisten, musste jede Ratte an die Testumgebung gewöhnt werden (Deacon & Rawlins, 2006). Zunächst fand die Habituation aller Tiere an die Handhabung und Belohnung mittels autoklavierter Cornflakes (gesüßte Maisflocken) im Belohnungsbecher durch die Experimentatoren über mehrere Tage statt. Anschließend begann das Training im T-Maze. Zu Beginn wurden die Ratten gemeinsam mit ihrem Käfigpartner für 15 Minuten in das mit Cornflakes bestückte T-Maze gesetzt. Bei geöffneten Türen wurden die Ratten wiederholt aus dem Labyrinth herausgehoben und wieder hineingesetzt. Der zweite Tag des Trainings wurde gleichartig durchgeführt, lediglich die Cornflakes befanden sich nur noch in den Armen des T-Maze und die Türen wurden bewegt. In den drei darauffolgenden Tagen durchliefen die Ratten ihr Training separat voneinander über jeweils 10 Minuten. Die Cornflakes wurden nur noch in die Belohnungsbecher positioniert. Am vorletzten Tag des Trainings wurden die Ratten auf Alternationsverhalten trainiert. Eine Tür der Zielarme blieb verschlossen, wenn die Ratte ihren Lauf begann. Beim nachfolgenden Lauf wurde die entsprechend andere Tür verschlossen. So entstand automatisch ein alternierendes Betreten der Zielarme. Der letzte Tag des Trainings wurde zu Kontrollzwecken entsprechend dem Versuchsprotokoll absolviert um die Eignung und Bereitschaft der Tiere zu bestätigen. Am Tag darauf wurde die bilaterale chemische Labyrinthektomie durchgeführt. Die Verhaltenstestung im T-Maze fand ab 1d post OP dreimal wöchentlich über neun Wochen statt.

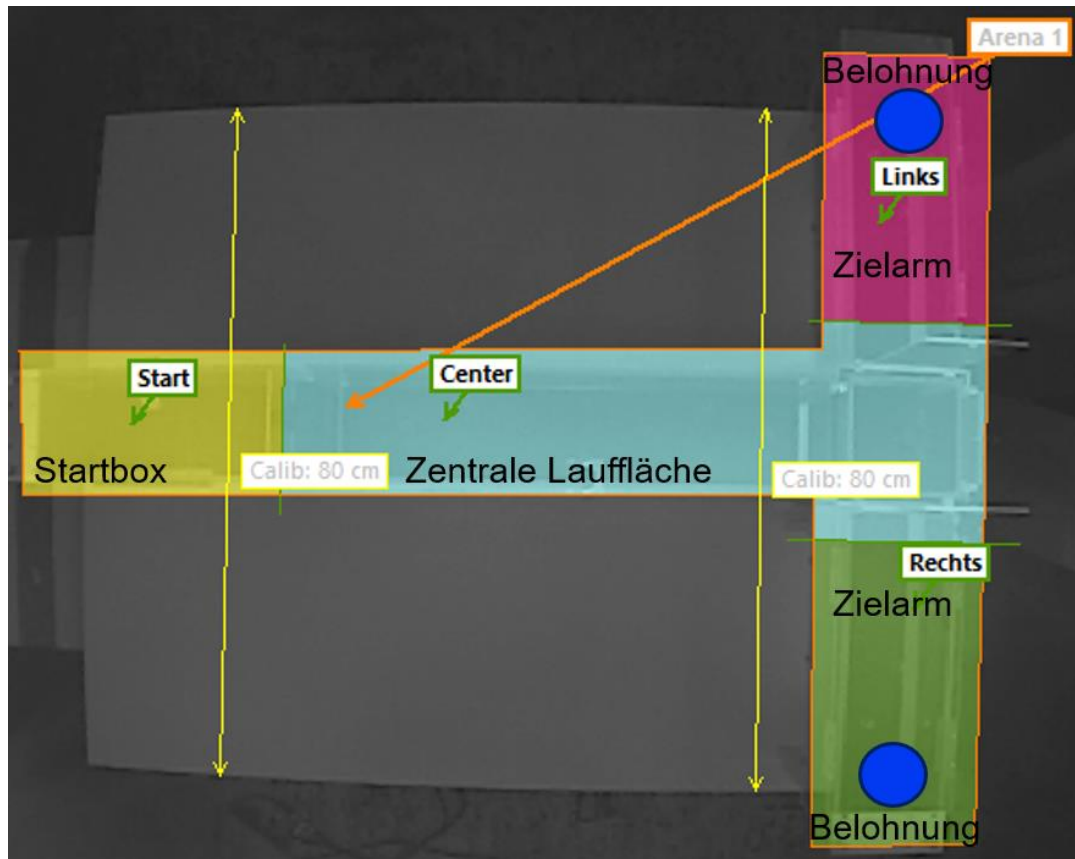


Abbildung 9: Schematische Darstellung des T-Maze

Die Einteilung in Detektionszonen im Programm EthoVision XT, sowie eine Kalibrierung durch definierte Strecken (gelbe Pfeile) erfolgte für die Video-basierte Auswertung.

Der Ablauf einer Testung wurde anhand eines adaptierten Protokolls nach Wenk (1998) und Deacon und Rawlins (2006) durchgeführt: Zunächst verbrachte jede Ratte vor ihrem Test im Labyrinth etwa 10 Minuten in einer Transportbox. So wurde ein einheitlicher Vorbereitungs- und Gemütszustand der Tiere gewährleistet. Nach der Verbringung einer Ratte in die Startbox des T-Maze begannen die Videoaufzeichnung und der erste Durchlauf. Bei geöffneten Armen des T-Maze durfte die Ratte einen Arm auswählen, erkunden und die Belohnung aufnehmen. Das Berühren aller Füße auf dem Boden des Zielarms, wurde als Entscheidung gewertet und die Tür hinter der Ratte verschlossen, um weiteres Erkunden zu unterbinden. Die Videoaufzeichnung stoppte automatisiert. Behutsam erfolgte das Zurücksetzen des Tieres in die Startbox. Nun begannen die fünf wertbaren Läufe durch das Labyrinth, die analog durchgeführt wurden. Die Belohnung war stets nur noch in dem Arm, der zuvor nicht betreten wurde, aufzufinden. Das vorhandene oder nicht vorhandene Alternieren der Tiere wurde als „richtige“ oder „falsche“ Entscheidung notiert und als Erfolgsquote pro Messtag (in %) festgehalten. Weiterhin erfolgte die Aufzeichnung der Anzahl der abgeschlossenen Durchläufe (in %). Die Abbruchkriterien wurden dabei wie folgt definiert:

1. Verweilen in der Startbox über 90s
2. Verweilen an gleicher Stelle im Labyrinth über 90s
3. Maximaldauer eines Durchlaufes von 5 Minuten überschritten

Nach zwei aufeinanderfolgend abgebrochenen Durchläufen wurde der Test beendet. Die Auswahl der Abbruchkriterien erfolgte, um eine negative Assoziation der Tiere zum Verhaltenstest zu vermeiden (Deacon & Rawlins, 2006).

2.3.2. Datenverarbeitung mit Video-gestützter Bewegungsanalyse

Die Videoaufzeichnung der Durchläufe im T-Maze erfolgte mit dem Programm EthoVision XT 13 (Noldus Information Technology). Die Kontur der weißen Tiere wurde durch dynamische Subtraktion vor dem schwarzen Untergrund erfasst. Eine Detektion von Nasenspitze, Körpermitte und Schwanzbasis ermöglichte weitere Analysen. Eine Aufteilung für die Auswertung der Videoanalysen wurde pro Messtag vorgenommen. Unvollständige Aufzeichnungen wurden aus der Auswertung ausgeschlossen. Eine Auswahl der Analyseparameter erfolgte gemäß Tabelle 3.

Parameter	Erläuterung	Einheit
Distanz	Zurückgelegte Wegstrecke pro Lauf	cm
Zeit	Abgelaufene Zeit zwischen Beginn eines Laufes und Beenden durch Betreten eines Zielarmes	s
Geschwindigkeit	Gemittelte Geschwindigkeit pro Lauf	cm/s
Bewegungsverhalten	Anteil der Fortbewegung des Körpermittelpunktes im Beobachtungszeitraum; Geschwindigkeiten von mehr als 1,75 cm/s wurden als bewegt angesehen	%

Tabelle 3: Verhaltensparameter im Programm EthoVision XT

2.3.3. Etablierung des T-Maze

Für die Etablierung des T-Maze-Protokolls und die Aufzeichnung der Ergebnisse von gesunden Tieren zu Vergleichszwecken wurden zehn Ratten verwendet. Sie durchliefen das Training für den Verhaltenstest und absolvierten dreimal wöchentlich über neun Wochen die Untersuchung im T-Maze. Da sie keiner Operation oder anderen Prozeduren unterzogen wurden, dienten die aufgezeichneten Parameter der Validierung des Versuchsaufbaus und des Vergleichs der erkrankten Tiere zu gesunden.

2.4. μ PET-Messungen

Die Herstellung der Tracer erfolgte automatisiert in der abteilungseigenen Radiopharmazie mittels Kassetten von FASTlab™ (GE Healthcare). Nach Verbringen der Tiere in den Untersuchungsraum wurde eine Kurzzeitanästhesie korrespondierend zum chirurgischen Eingriff eingeleitet, erhalten und überwacht. Auf das Platzieren einer Kanüle (Braun, 24G) in die laterale Schwanzvene folgte die intravenöse Injektion eines Bolus von 50 ± 2 MBq des jeweiligen Tracers (s. Abbildung 10a). Der Katheter wurde mit 200 μ l NaCl-Lösung nachgespült. Alle Materialien, die mit Aktivität in Verbindung kamen, wurden in einem Aktivimeter rückgemessen, um die injizierte Aktivität errechnen zu können. Zur besseren Biodistribution des Tracers in den aktiven Hirnarealen erwachte das Tier und konnte sich während der Anreicherungsphase bis zum μ PET-Scan (Uptakephase) von 38 Minuten oder 45 Minuten frei bewegen (s. Abbildung 11, Abbildung 12). Für den μ PET-Scan wurde das Tier erneut anästhesiert und bei 1,5- bis 1,8-%iger Isoflurannarkose im μ PET-Scanner auf eine Wärmeplatte platziert und fixiert (Klebestreifen an Schulter und Becken, Leukoplast®). Nach Ausrichtung des Kopfes im FOV des Scanners wurde zunächst eine Transmissionsmessung (TX) mittels einer rotierenden [^{57}Co]-Punktquelle durchgeführt. Anschließend fand die 30-minütige Emissionsmessung (EM) statt (s. Abbildung 10b). Nach Abschluss der μ PET-Messung wurde die Ratte während der Aufwachphase beobachtet und bei vollständiger Erholung von der Anästhesie in den Heimkäfig verbracht. Sequentiell identische Messungen erfolgten pro Tracer einmal wöchentlich bei allen Ratten. Körper- und Ringdosimeter wurden stets vom durchführenden Personal getragen, um die Strahlenexposition gemäß der Strahlenschutzverordnung aufzuzeichnen.

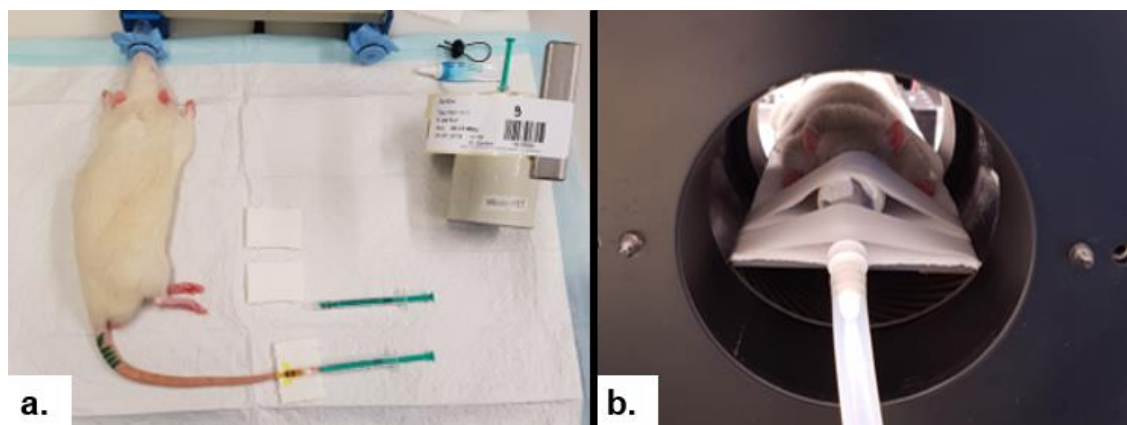


Abbildung 10: Durchführung eines μ PET-Scans

- a. Ratte mit intravenösem Schwanzkatheter prae injectionem
- b. Ratte im Ringtomographen des μ PET während einer Emissionsmessung, Ausrichtung des Kopfes im FOV

2.4.1. Protokoll des [^{18}F]FLT-Scans

Bei den [^{18}F]FLT-Scans wurde je ein Tier einzeln im μPET untersucht. Zur besseren Anreicherung im Gehirn erfolgte zusätzlich 10 Minuten vor Injektion des Tracers die Verabreichung von 100 mg/kg Probenecid-Lösung (50 mg/ml) intraperitoneal. Auf eine 30-minütige Wachphase während der Anreicherung des Tracers folgte die Transmissionsmessung mit einer Dauer von 7 Minuten. Die Emissionsmessung startete 45 Minuten nach Injektion des Tracers. Insgesamt dauerte die Prozedur 95 Minuten (s. Abbildung 11).

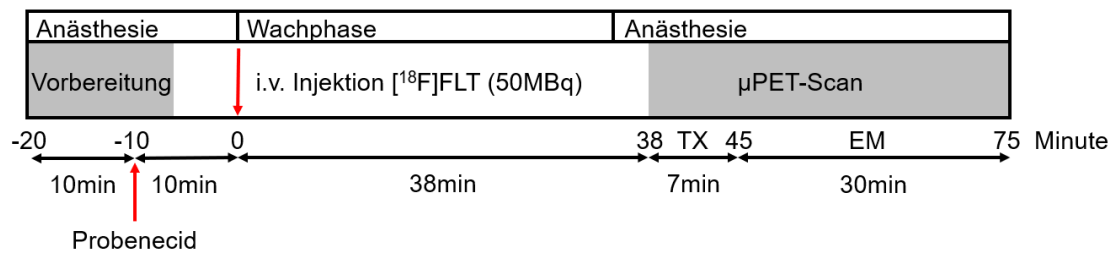


Abbildung 11: Scanprotokoll für [^{18}F]FLT

Nach der Injektion von Probenecid und [^{18}F]FLT erwachte das Tier für die Uptakephase und wurde anschließend unter erneuter Inhalationsanästhesie einer Transmissions (TX)- und Emissionsmessung (EM) im μPET unterzogen.

2.4.2. Protokoll des [^{18}F]GE180-Scans

Bei den [^{18}F]GE180-Scans wurden aufgrund limitierter spezifischer Aktivität je zwei Tiere gemeinsam im μPET untersucht. Die Wachphase während der Anreicherung betrug 37 Minuten und war gefolgt von 15 Minuten Transmissionsmessung. Anschließend wurde die Emmissionsmessung 60 Minuten nach Injektion des Tracers durchgeführt. Die Gesamtdauer des Scanprotokolls betrug 100 Minuten (s. Abbildung 12).

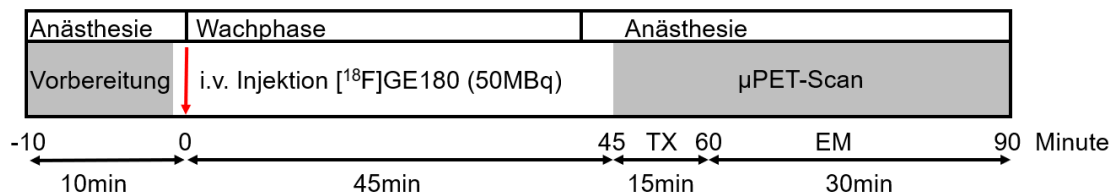


Abbildung 12: Scanprotokoll für [^{18}F]GE180

Nach der Injektion von [^{18}F]GE180 erwachte das Tier für die Uptakephase und wurde anschließend unter erneuter Inhalationsanästhesie einer Transmissions (TX)- und Emissionsmessung (EM) im μPET unterzogen.

2.5. Euthanasie

Sofern die Tiere nicht zur Gewebsentnahme vorgesehen waren, wurden sie nach Abschluss des Tierversuchs euthanasiert. Eine tiefe Isoflurannarkose (4%) mit anschließender intravenöser Injektion von 60 mg/kg (etwa 2 ml) Xylazinhydrochlorid führte zum Tod der Ratte. Nach Feststellung des Todes erfolgte eine zervikale Dislokation.

2.6. Perfusion und Gewebeentnahme

Zur Narkotisierung erhielten die Tiere eine intraperitoneale Misch-Injektion von Xylazinhydrochlorid (8 mg/kg) und Ketaminhydrochlorid (120 mg/kg). Bei Bedarf wurde eine zweite intravenöse Injektion des Gemisches vorgenommen, um die nötige Narkosetiefe zu erreichen. Nach Sistieren der Atmung erfolgten die aufrechte Fixation der Ratte in einem Abzug und nachfolgend die Thorakotomie. Eine stumpfe Kanüle wurde vom linken Herzwinkel aus in die Aorta eingeführt und fixiert, daraufhin das rechte Herzhorn eröffnet um den Blutabfluss zu gewährleisten. Die Perfusion mittels einer Pumpe (DOSE IT P910, INTEGRA) begann mit dem Ausspülen des Blutes durch 200 ml (1x) PBS-Lösung (30 ml/min). Danach wurde das System auf 4%ige PFA-Lösung umgestellt und 450 ml (22,5 ml/min) zur Perfusionsfixierung durch das Herz-Kreislaufsystem gespült. Der Tod trat durch das Entbluten ein. Durch das chirurgische Entfernen der Schädeldecke konnte das Gehirn vollständig entnommen und in ein steriles mit 4%iger PFA-Lösung gefülltes Probenröhrchen (50 ml, Greiner) überführt werden. Nach 24-stündiger lichtgeschützter Aufbewahrung wurde das Gehirn in Saccharose-Lösung umgebettet. Einer mindestens 3-tägigen Einwirkungsdauer bei 5-7 °C folgte die Vorbereitung zur histologischen Aufarbeitung.

2.6.1. BrdU-Applikation

Zur postmortalen, immunofluoreszenten Darstellung der Proliferation wurde den Tieren einen Tag vor ihrer Perfusion je 50 mg/kg BrdU-Lösung intraperitoneal (Braun, 25G) verabreicht.

3. Histologische Aufarbeitung

Die Hemisphären wurden mit einem Skalpell getrennt, jeweils in Tissue Tek® (Sakra) eingebettet und bei -80 °C eingefroren. Bis zur weiteren Bearbeitung erfolgte die Lagerung bei -20 °C. Gefriermikrotomschnitte (CryoStar NX70, ThermoFisher) mit 80 µm Dicke wurden pro Hemisphäre angefertigt und in eine Wellplate (6 Wells x 1000 µl, Sigma) übertragen. Die Schnittführung erfolgte sagittal über die gesamte Hemisphäre inklusive des Hirnstamms. In der cryoprotektiven Aufbewahrungslösung konnten die Schnitte bei -20 °C bis zur Prozessierung für die Immunofluoreszenz-Färbung gelagert werden (s. Abbildung 13a).

3.1. Fluoreszenz-Färbung

Die Färbung der Schnitte erfolgte im „Free floating-Verfahren“. Der Inhalt jeweils eines Wells pro Hemisphäre wurde mit PBS von der Aufbewahrungslösung gereinigt und in eine neue Wellplate übertragen. So konnten sechs Hemisphären gleichzeitig bearbeitet werden. Als erster Schritt erfolgte eine 20-minütige lichtgeschützte Inkubation mit Salzsäure, auf die drei 10-minütige Waschphasen mit Boratpuffer folgten. Das Waschen der Schnitte geschah zweimal über 10 Minuten in PBS. Anschließend wurde die primäre Antikörper-Mischung (BrdU-rat) zugegeben und die Wellplate über Nacht bei 5-7 °C inkubiert. Nach 24 h erfolgten drei 10-minütige Waschphasen mit PBS. Alle folgenden Schritte wurden lichtgeschützt durchgeführt. Nach einer 2-stündigen Inkubation mit der sekundären Antikörper-Mischung (rat-488 und DAPI) erfolgte der Abschluss des Färbeprozesses mit drei erneuten 10-minütigen Waschphasen mit PBS. Eine Kontrolle des erfolgreichen Färbeprozesses wurde durchgeführt und die Schnitte anschließend auf Objektträger aufgezogen und mit einem Deckglas verklebt (Mounting Medium, Polysciences) (s. Abbildung 13b). Nach dem Abtrocknen erfolgte die lichtgeschützte Lagerung bis zur Auswertung in Objektträgerkästen bei 5-7 °C.

3.2. Auswertung

Die drei Strukturen subventrikuläre Zone (SVZ), Gyrus dentatus (DG) und vestibuläre Kerne (VN) wurden gemäß des stereotaktischen Atlas des Rattenhirns von Paxinos und Watson (2007) identifiziert. Für die Strukturen DG und VN erfolgte die manuelle Auszählung von BrdU-positiven Zellen innerhalb der gesamten identifizierten Struktur und über drei Schnitte pro Hemisphäre. Die SVZ wurde aufgrund der wesentlich höheren BrdU-positiven Zellzahl über sechs Rasterkästchen pro Schnitt ausgezählt, dies geschah wiederum über drei Schnitte pro Hemisphäre. Es wurde darauf geachtet keine BrdU-positiven Zellen am Rand von Blutgefäßen zu zählen. Die Analysen der Daten erfolgten erst nach Abschluss aller Auszählungen, um eine mögliche Voreingenommenheit bei der Auszählung zu verhindern.

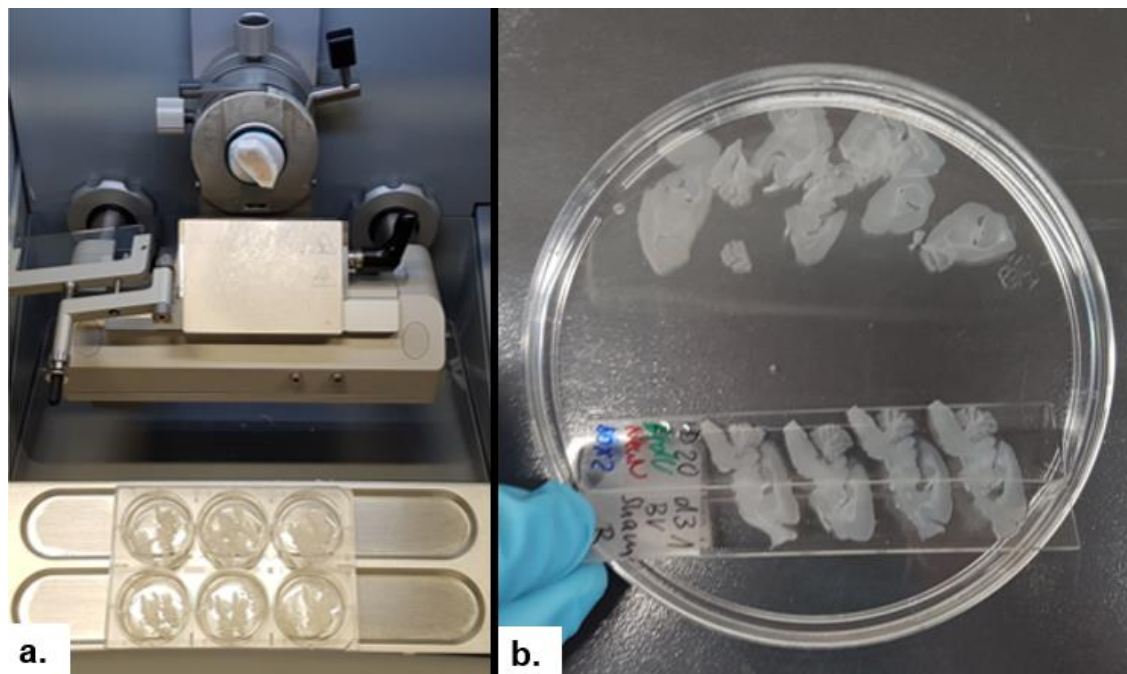


Abbildung 13: Anfertigung histologischer Präparate

- a. Eingespannte Hemisphäre zum Schnitt im Gefriermikrotom; umgehende sequentielle Überführung in das mit cryoprotektiver Aufbewahrungslösung gefüllte Wellplate
- b. Aufziehen der gefärbten Schnitte auf einen Objektträger

4. Datenanalyse

Die akquirierten μ PET-Daten wurden mithilfe eines iterativen OSEM-3D Rekonstruktionsalgorithmus, der eine Streu- und Schwächungskorrektur beinhaltet, in der Software Inveon acquisition workplace rekonstruiert. Für die Schwächungskorrektur wurde auf die korrespondierende Transmissionsmessung zurückgegriffen. Eine dreidimensionale (3D) Bildmatrix von $128 \times 128 \text{ mm}^2$ und 159 Schichten wurde somit pro Datensatz erstellt. Die weiteren Verarbeitungsschritte fanden im Programm PMOD statt. Alle Datensätze wurden auf einen kommerziell erworbenen histologischen Rattenhirn-Atlas koregistriert und zugeschnitten, der zur anatomischen Orientierung diente. Für beide Tracer wurde jeweils ein Durchschnittsbild aus den koregistrierten Baselinemessungen erstellt (s. Abbildung 14). Diese Templates entsprachen jeweils einer interpolierten Bildmatrix von $124 \times 125 \times 237$ Voxeln (3D Äquivalent eines Pixels) mit einer Voxelgröße von $0,125 \times 0,125 \times 0,125 \text{ mm}^3$. Mit einer manuellen Koregistrierung der rekonstruierten μ PET-Bilder im Fusion Tool wurde die deckungsgleiche Anpassung an das jeweilige Template durch Verschieben, Rotieren und Skalieren durchgeführt. Darauf folgte eine elastische Koregistrierung mit einem in PMOD implementierten SPM (statistical parametric mapping)-Algorithmus. Die $[^{18}\text{F}]\text{GE180}$ -Daten wurden zusätzlich mit einem Gauss-Filter ($0,8 \text{ mm}$; $0,8 \text{ mm}$; $0,8 \text{ mm}$) bearbeitet. Als letzter Schritt erfolgte eine Normalisierung pro Datensatz auf den „global mean“. Dabei erfolgte die Division der Aktivitätswerte eines jeden Voxels durch die gemittelte Gesamtaktivität des jeweiligen Rattenhirns pro Voxel. Somit war die Vergleichbarkeit unterschiedlicher Tiere in Bezug auf schwankende applizierte Radioaktivitätsdosen gewährleistet. Diese Bearbeitung erfolgte durch nicht im Versuch beteiligte Mitarbeiter und lediglich anhand der Identifikationsnummer ohne Gruppenzuweisung.

4.1. VOI-Analysen

Um die statistische Auswertung der cerebralen Aktivitätsverteilungen in Zahlen zu verdeutlichen sowie einen quantitativen Vergleich mit der Histologie zu ermöglichen, wurden VOI-Analysen durchgeführt. Die Definition des „Volume of Interest“ (VOI) erfolgte für SVZ, DG und VN pro Hemisphäre im Programm PMOD durch Ausrichtung je eines Kugelvolumens in den anatomischen Strukturen des koregistrierten histologischen Rattenhirn-Atlas. Die Kugeln besaßen Maße von $\varnothing=2$ mm für DG und SVZ sowie $\varnothing=4$ mm für die VN. Pro Hemisphäre einer Ratte wurde ein Aktivitätswert der jeweiligen VOI ausgegeben und als relativer Wert (gemittelte Aktivität pro Voxel innerhalb der VOI im Verhältnis zur gemittelten Aktivität im Gesamtvolumen des Hirns) analysiert. Die Analysen sind somit als relativer prozentualer Anteil des Uptakes im Gehirn angegeben.

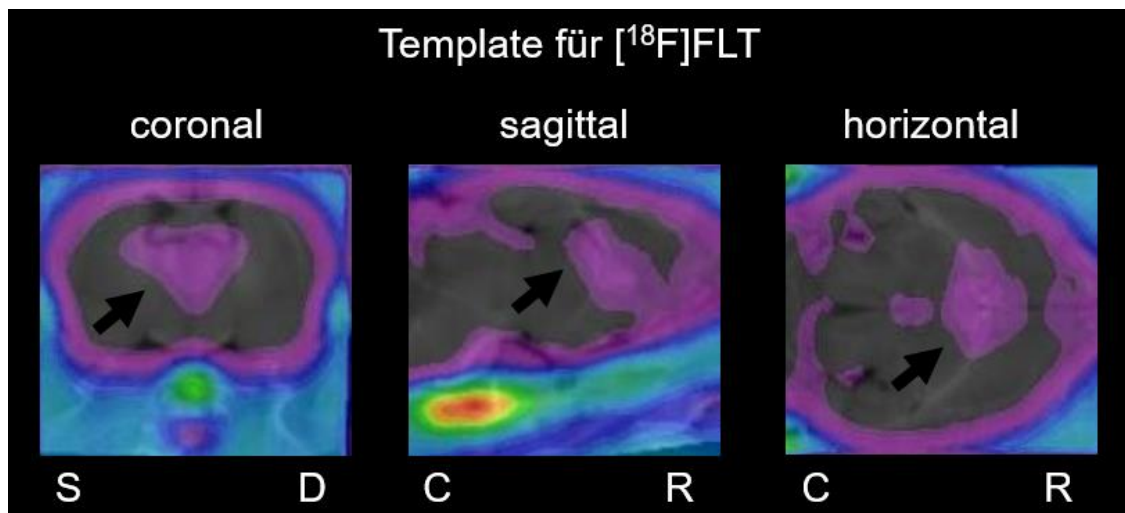


Abbildung 14: $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ -Template zur Koregistrierung im Programm PMOD

Der Radiotracer $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ zeigt ein charakteristisches Anreicherungsmuster, das cerebral bei gesunden Individuen nur im Bereich der Ventrikel und der hippocampalen Formation detektiert wird (schwarze Pfeile zeigen auf cerebrales Signal).

5. Statistische Auswertung

Alle Daten wurden mit der Software IBM SPSS 25 analysiert. Eine Untersuchung auf Normalverteilung erfolgte mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests. Statistische Gruppenunterschiede wurden mit dem nicht-parametrischen Mann-Whitney-U-Test oder Kruskal-Wallis H-Test ermittelt. Interwochenvergleiche wurden pro Gruppe als Varianzanalyse nach Friedman durchgeführt. Die Untersuchungen auf Korrelation wurden als Spearman Rho-Koeffizient (r) berechnet. Die Auswertung aller Tests wurden zweiseitig durchgeführt und p -Werte $< 0,05$ als signifikant angesehen.

5.1. Statistical parametric mapping (SPM8)

Im Programm SPM8 erfolgte eine voxelweise statistische Auswertung der μ PET-Daten von zwei Vergleichsgruppen. Es ermöglicht eine visuelle Darstellung signifikanter Gruppenunterschiede der Aktivitätsverteilungen im Rattenhirn. Um frühe, mittelfristige und späte Effekte der BL zu untersuchen, erfolgte eine zusammengefasste Analyse der μ PET-Scans. Die Daten der [^{18}F]FLT-Scans wurden für die Wochen 1/2, 3/4, 5/6 und 7,8,9 in vier Analysen gebündelt, die jeweils gegen ihren eigenen Baseline-Scan mittels eines gepaarten t-Test verglichen wurden. Die Einteilung der [^{18}F]GE180-Daten erfolgte in vier Analysen der Wochen 2/3, 4/5, 6/7 und 8/9 und wurde als Zweistichproben-t-Test im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe aus 25 Tieren durchgeführt. In beiden Fällen ermöglichte eine farblich kodierte Darstellung die Unterscheidung in Mehr- oder Weniger-Anreicherungen der Tracer in den Hirnstrukturen erkrankter Tiere im Vergleich zur Kontrollgruppe. Da die multiple Testung zu einer erhöhten Fehlerwahrscheinlichkeit führt, erfolgten die Analysen bei einem Signifikanzniveau von $p < 0,005$. Analog wurde eine Gruppenanalyse in Verbindung mit Kovariaten durchgeführt. Pro Messtag wurde dabei die cerebrale Anreicherung des jeweiligen Tracers mit bestimmten Verhaltensparametern des T-Maze (Orientierungsvermögen, Lokomotionsgeschwindigkeit) korreliert. Diese Analyse ergab farblich kodierte Korrelationskoeffizienten in einer dreidimensionalen Darstellung über das Rattenhirn. Mittels Kontrastauswahl wurde eine Unterscheidung in positive und negative Korrelationen ermöglicht.

IV. ERGEBNISSE

Die Symptomatik der bilateralen Vestibulopathie wurde als Grundlage dieser Dissertation durch die standardisierte Durchführung einer chemischen bilateralen Labyrinthektomie (BL) an Ratten hervorgerufen. Insgesamt 61 Tiere wurden in die Studie eingeschlossen und randomisiert auf Gruppen aufgeteilt. Die detaillierte Zahl an Tieren in den Einzelexperimenten ist in Tabelle 4 dargestellt.

Gruppe	Eingriff	Anzahl Ratten	Ausfälle (in %)
Etablierung T-Maze	Kein Eingriff	10	0
µPET & T-Maze	BL	12	0
Histologische Auswertung	Kein Eingriff	3	0
	Sham Operation	18	0
	BL	18	1 (5,6%)
Gesamt		61	1 (1,6%)

Tabelle 4: Tieranzahl untersuchter Versuchsgruppen

1. Krankheitsverlauf nach bilateraler Labyrinthektomie

Durch vergleichende Verhaltensanalysen einer Gruppe von Tieren nach bilateraler Labyrinthektomie im Vergleich zu einer Kontrollgruppe konnte überprüft werden, in welchem Ausmaß sich die Symptomatik der bilateralen Vestibulopathie mithilfe der aufgezeichneten Parameter im T-Maze darstellen und unterscheiden lässt. Die Ergebnisse sollten Aufschluss über die Orientierungsfähigkeit und den Zustand des Arbeitsgedächtnisses sowie über das Lokomotionsverhalten der Ratten geben. Die Daten wurden gruppenweise und im Zeitverlauf analysiert. Die drei wöchentlichen Messtage der Verhaltensparameter im T-Maze wurden für die folgenden Analysen aus Gründen der Übersichtlichkeit und Vergleichbarkeit zu den μ PET-Daten wochenweise als Mittelwert der Einzelmessungen dargestellt.

1.1. Klinische Beobachtungen

Alle Tiere zeigten nach der chemischen bilateralen Labyrinthektomie die typischen Symptome: Gang- und Standataxie, ausgeprägte Hyperaktivität bei Bewegung im Raum, Kopf-Dorsiflexion, Kopfschütteln, Kreisbewegungen, fehlende Thigmotaxis und fehlende Zuwendung auf akustische Reize. In der Kontrollgruppe wurde ausschließlich physiologisches Verhalten beobachtet.

1.2. T-Maze

Die nachfolgenden Analysen werden nach Parametern gegliedert aufgezeigt. Sie bestehen aus den aufgezeichneten Ergebnissen der Verhaltenstestung sowie der Videoverarbeitung des Programms EthoVision. Das Lokomotionsverhalten und die Orientierungsfähigkeit der Ratten wurden dreimal wöchentlich über neun Wochen post OP untersucht. Die Parameter der Einzelmessungen wurden pro Untersuchungswoche gemittelt dargestellt.

1.2.1. Abgeschlossene Durchläufe

Der Mittelwert aller absolvierten Durchläufe lag für die Kontrollgruppe bei 97%. Die BL-Gruppe schloss durchschnittlich mit einer Quote von 99% ab. Ein signifikanter Gruppenunterschied wurde insgesamt mit $p=0,001$ festgestellt. Beide Gruppen zeigten keine signifikanten Änderungen im Zeitverlauf.

1.2.2. Erfolgsquote

Die mittlere Erfolgsquote der Kontrollgruppe lag in dieser Studie im Schnitt über alle Untersuchungszeitpunkte bei 72%. Im Gegensatz dazu erreichte die BL-Gruppe durchschnittlich eine signifikant schlechtere Erfolgsquote von 57% ($p < 0,001$), die fast einem zufälligen Ergebnis (von 50%) entspricht. Auch im Einzelvergleich der Wochenmittelwerte zeigte die BL-Gruppe schlechtere Leistungen im Vergleich zu der Kontrollgruppe (Woche 1: $p = 0,011$; Woche 3: $p < 0,001$; Woche 5: $p = 0,002$; Woche 6: $p = 0,012$; Woche 8: $p = 0,011$; Woche 9: $p < 0,001$; s. Tabelle 5). Die untersuchten Gruppen zeigten im Verlauf keine Seitenpräferenz in der Auswahl der Zielarme und keine signifikanten Veränderungen in der mittleren Erfolgsquote im Zeitverlauf. Die BL-Gruppe zeigte lediglich eine erhöhte Varianz der mittleren Erfolgsquote mit einer Tendenz zur Signifikanz im Zeitverlauf ($p = 0,073$). Bei der Kontrollgruppe fand sich eine Tendenz zur Verbesserung ihrer Erfolgsquote mit +6% zwischen Woche 1 und Woche 9 post OP, während sich die BL-Gruppe im gleichen Zeitraum mit -20% verschlechterte.

Gruppe	Erfolgsquote in % pro Woche post OP								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Kontrolle	70,1 ± 3,1	66,3 ± 3,3	74,9 ± 3,6	68,6 ± 4,1	74,2 ± 3,4	71,6 ± 3,0	70,5 ± 2,6	73,1 ± 3,7	76,0 ± 3,1
BL	58,0 ± 4,0	58,3 ± 3,6	51,7 ± 3,6	61,1 ± 3,6	58,3 ± 3,3	56,8 ± 4,0	63,9 ± 4,2	57,2 ± 4,1	46,7 ± 4,8

Tabelle 5: Erfolgsquote (Mittelwerte mit Standardfehler)

1.2.3. Zeit

Die Zeit, in der ein Versuchsdurchlauf abgeschlossen wurde, verringerte sich im Zeitverlauf für beide Gruppen. Die Kontrollgruppe zeigte eine reduzierte Zeit pro Durchlauf von Wochen 1, 2 und 3 zu Woche 9 post OP (jeweils $p < 0,001$). Bei der BL-Gruppe konnte zwischen Woche 1 und Wochen 7, 8 und 9 sowie zwischen den Wochen 2, 3, 4, 5 und Woche 9 post OP jeweils eine signifikant reduzierte Dauer festgestellt werden ($p < 0,001$). Ein Gruppenunterschied ergab sich nur in Woche 4 post OP ($p < 0,001$).

1.2.4. Distanz

Die zurückgelegte Strecke der Kontrollgruppe verringerte sich im Verlauf des Versuchs pro Durchlauf von durchschnittlich 165 cm auf 120 cm. Eine signifikant reduzierte Strecke ergab sich zwischen Wochen 1 und 2 verglichen mit Woche 9 post OP (jeweils $p < 0,001$). Die BL-Gruppe zeigte im Zeitverlauf zunächst eine signifikante Zunahme der zurückgelegten Strecke von Woche 1 auf Woche 3 ($p = 0,021$) und Woche 4 post OP ($p = 0,017$), gefolgt von einem relativen Rückgang zwischen Woche 3 und Woche 9 post OP ($p < 0,001$; s. Tabelle 6). Obwohl sich die BL-Gruppe der Kontrollgruppe zum Ende des Versuches relativ annähert, bestehen höchst signifikante Gruppenunterschiede für den Zeitraum von Woche 2 bis Woche 9 post OP (jeweils $p < 0,001$; s. Abbildung 15).

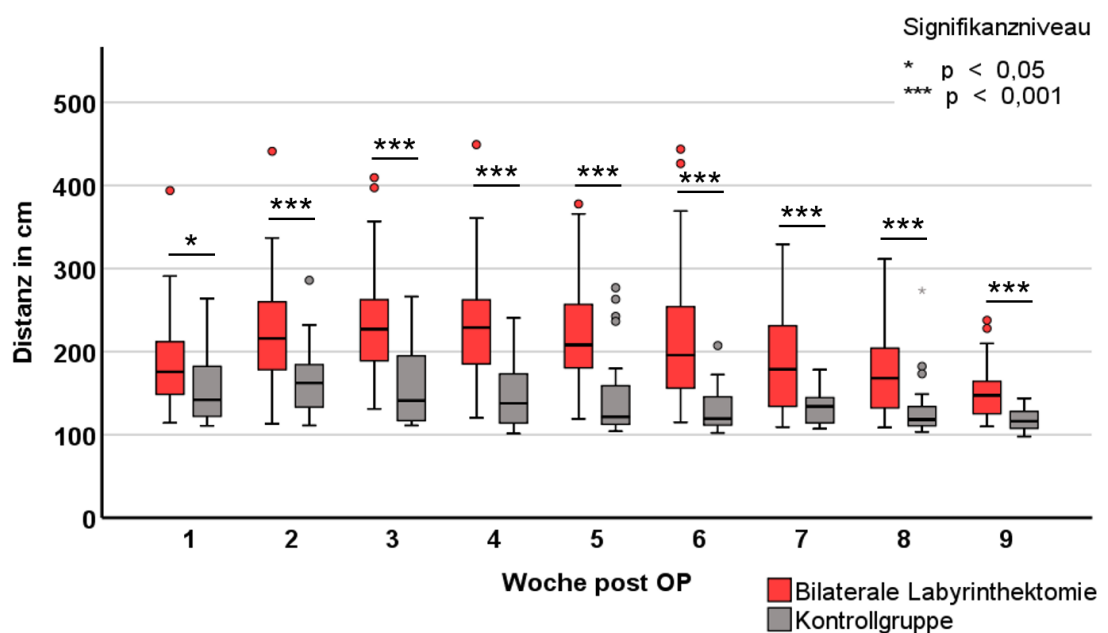


Abbildung 15: T-Maze, Distanz im Gruppenvergleich

Signifikant höhere zurückgelegte Distanz der BL-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe an allen Messtagen post OP.

Gruppe	Gemittelte Distanz in cm pro Woche post OP								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Kontrolle	158,3 ± 8,3	165,2 ± 7,5	160,1 ± 8,6	150,9 ± 7,5	143,2 ± 9,0	130,1 ± 4,4	133,4 ± 3,8	128,4 ± 6,3	118,8 ± 3,1
BL	189,2 ± 10,2	220,9 ± 11,1	237,9 ± 11,3	238,0 ± 11,7	224,1 ± 11,4	222,7 ± 16,9	191,1 ± 10,5	173,5 ± 8,7	152,9 ± 7,7

Tabelle 6: Distanz (Mittelwerte mit Standardfehler)

1.2.5. Geschwindigkeit

Die gemittelte Geschwindigkeit im T-Maze steigerte sich in der Kontrollgruppe von 8 auf 13,5 cm/s. Signifikante Zunahmen ergaben sich zwischen Wochen 1, 2, 3 und Woche 9 post OP (jeweils $p < 0,002$). Die BL-Gruppe zeigte eine stärkere Geschwindigkeitszunahme von 8 auf 18 cm/s (s. Tabelle 7). Hier ergab sich bereits ein signifikanter Geschwindigkeitsanstieg zwischen Woche 1 und Woche 5 post OP ($p = 0,001$). Ein signifikanter Effekt konnte weiterhin zwischen den Wochen 1, 2, 3, 4 und Woche 9 post OP nachgewiesen werden (jeweils $p < 0,001$). Beide Gruppen unterschieden sich höchst signifikant in Woche 2 und 3 post OP (jeweils $p \leq 0,001$). Während in Woche 4 und 5 post OP kein signifikanter Gruppenunterschied festgestellt werden konnte, ergab sich in Woche 6 post OP wieder eine signifikant erhöhte Geschwindigkeit der BL-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe ($p < 0,01$), die sich in den Wochen 7 bis 9 weiter ausprägte ($p < 0,001$; s. Abbildung 16).

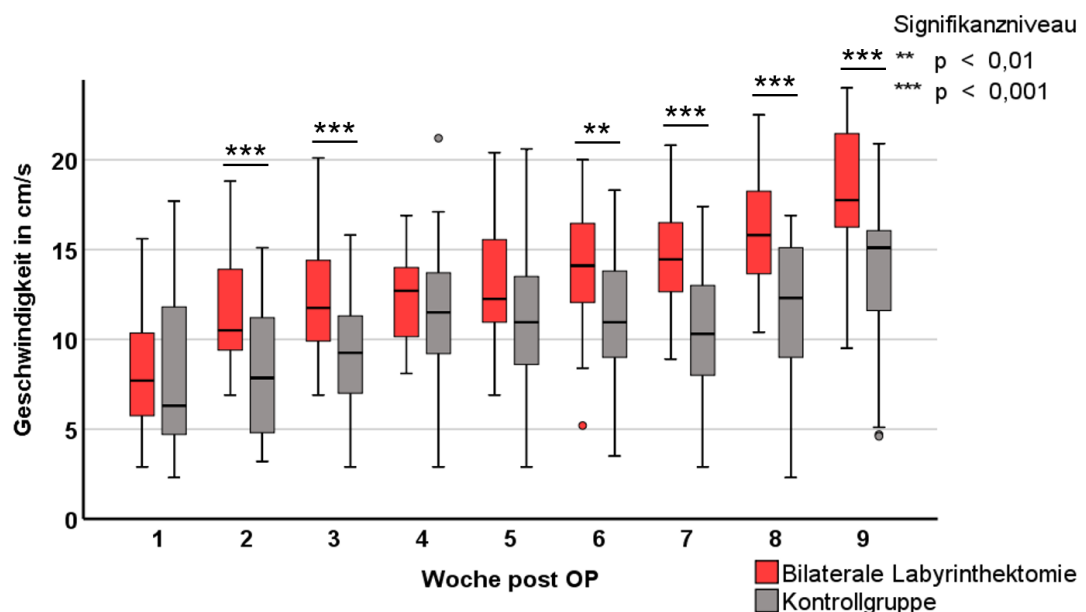


Abbildung 16: T-Maze, Geschwindigkeit im Gruppenvergleich

Signifikant höhere Geschwindigkeitszunahme der BL-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe in Wochen 2, 3, 5 und 6 post OP.

Gruppe	Gemittelte Geschwindigkeit in cm/s pro Woche post OP								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Kontrolle	8,2 ± 0,8	8,3 ± 0,6	9,1 ± 0,6	11,4 ± 0,7	10,8 ± 0,8	10,9 ± 0,7	10,4 ± 0,8	11,4 ± 0,8	13,4 ± 1,1
BL	8,1 ± 0,5	11,5 ± 0,5	12,3 ± 0,5	12,3 ± 0,4	12,9 ± 0,6	13,8 ± 0,5	14,6 ± 0,5	16,0 ± 0,5	18,1 ± 0,7

Tabelle 7: Geschwindigkeit (Mittelwerte mit Standardfehler)

1.2.6. Bewegungsverhalten

Die relative Bewegungsdauer stieg verhältnismäßig in beiden Gruppen an. Die Kontrollgruppe wies eine Zunahme der prozentualen Bewegung von 21% auf 30% im Versuchszeitraum auf. Diese Zunahme war signifikant zwischen Woche 1 und Woche 9 ($p=0,016$) sowie Woche 3 und Woche 9 post OP ($p=0,021$). Die erkrankten Tiere bewegten sich in Woche 1 in 22% und in Woche 9 post OP durchschnittlich in 41% der Zeit des Versuchsdurchlaufes (s. Tabelle 8). Die Zunahme zwischen Woche 1 und Woche 5 ($p=0,002$) und den Wochen 1, 2, 3, 4 und Woche 9 post OP (jeweils $p<0,001$) war signifikant. Abgesehen von Woche 1 und 4 post OP ergab sich ein höchst signifikanter Unterschied im Gruppenvergleich ($p<0,001$; s. Abbildung 17).

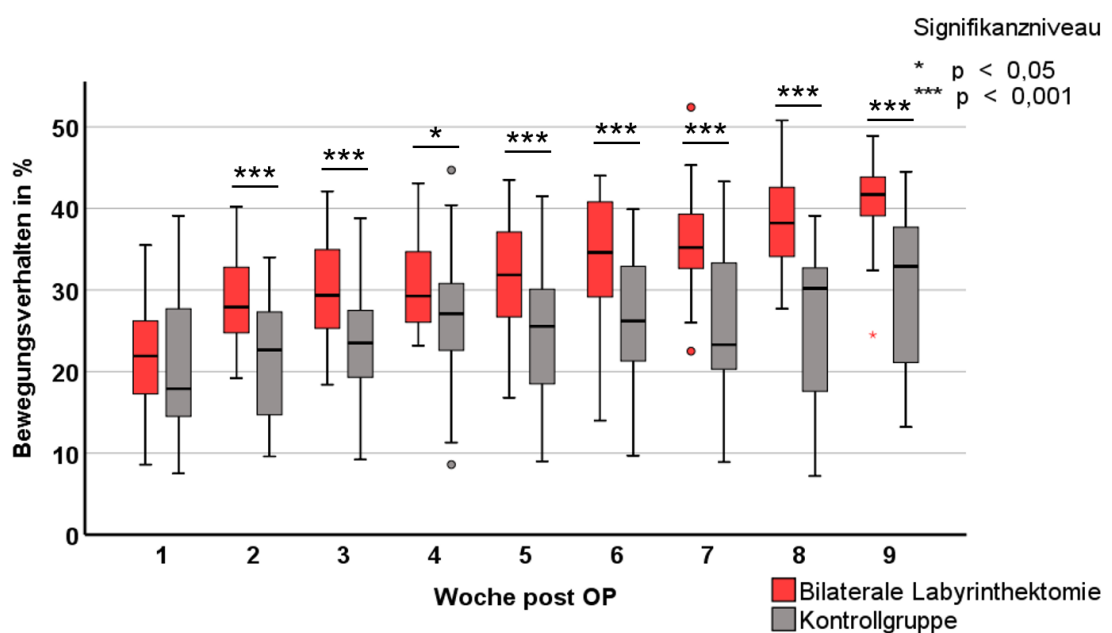


Abbildung 17: T-Maze, Bewegungsverhalten im Gruppenvergleich

Signifikant höherer Bewegungsdrang der BL-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe in Wochen 2 bis 9 post OP.

Gruppe	Gemittelttes Bewegungsverhalten in % pro Woche post OP								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Kontrolle	21,0 ± 1,6	21,6 ± 1,4	23,3 ± 1,4	26,5 ± 1,5	24,7 ± 1,6	25,9 ± 1,5	24,9 ± 1,6	26,0 ± 1,8	29,6 ± 2,2
BL	22,3 ± 1,1	28,8 ± 0,9	29,9 ± 0,9	30,2 ± 0,8	31,6 ± 1,1	34,1 ± 1,3	35,8 ± 1,0	38,5 ± 0,9	41,1 ± 1,1

Tabelle 8: Bewegungsverhalten (Mittelwerte mit Standardfehler)

1.2.7. Korrelation der Erfolgsquote mit Bewegungsparametern

Es wurden Korrelationsanalysen der Verhaltensparameter Erfolgsquote und Distanz, Geschwindigkeit und Bewegungsverhalten pro Untersuchungswoche durchgeführt. Die Distanz zeigte eine signifikante mittelstarke negative Korrelation mit der Orientierungsleistung in den Wochen 3 und 7, mit der Geschwindigkeit in Woche 8 und der anteiligen Bewegung in den Wochen 8 und 9 (s. Tabelle 9).

Erfolgsquote gegen	Woche post OP	r	p
Distanz	3	-0,411	0,013
Distanz	7	-0,370	0,027
Geschwindigkeit	8	-0,455	0,005
Bewegungsverhalten	8	-0,407	0,014
Bewegungsverhalten	9	-0,409	0,047

Tabelle 9: Korrelationsanalysen von Erfolgsquote und Bewegungsparametern

2. Histologische Auswertungen

Die histologischen Schnitte wurden für die subventrikuläre Zone (SVZ), den Gyrus dentatus (DG) und die vestibulären Kerne (VN) ausgewertet (s. Abbildung 18). Die BrdU-positiven Zellen in jeweils drei konsekutiven Schnitten wurden ausgezählt, addiert und nach Hemisphären getrennt ausgewertet. Seitenunterschiede ergaben sich für keine der ausgewerteten Regionen. Für die grafische Darstellung und statistische Analyse wurde daher der Durchschnitt der BrdU-positiven Zellen in korrespondierenden Hirnarealen gebildet.

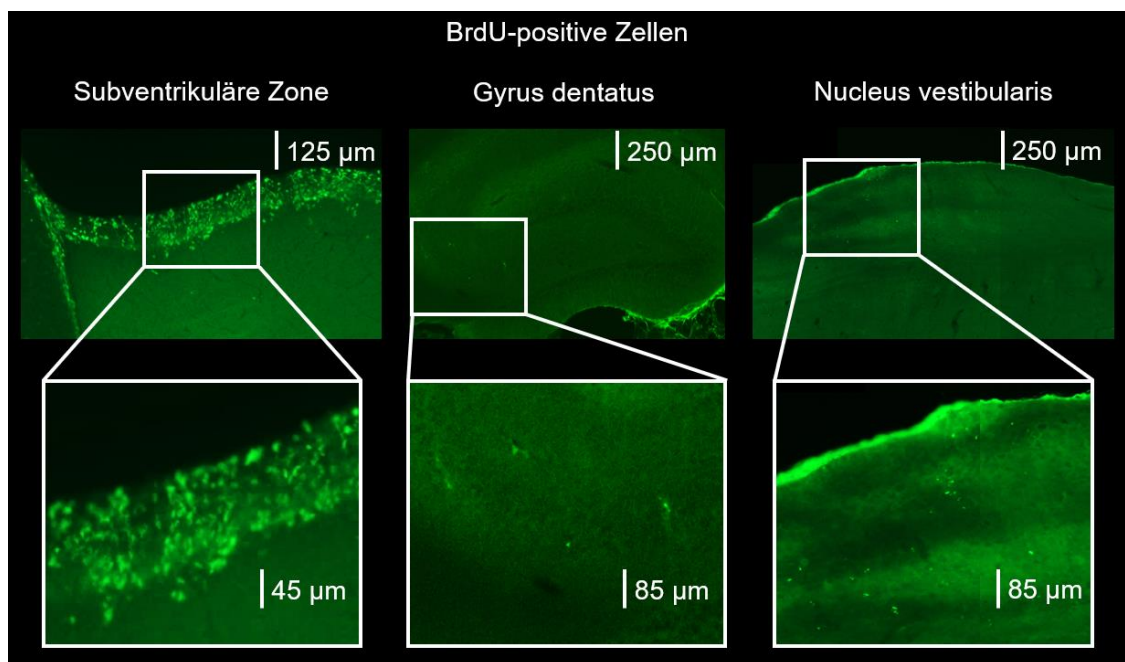


Abbildung 18: Beispiele ausgezählter Strukturen mit BrdU-positiven Zellen
Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen im Programm Zeiss ZEN;
Inlays mit stärkerer Vergrößerung zur Darstellung markierter Zellen.

2.1. Subventrikuläre Zone

Die Auszählung in der subventrikulären Zone ergab für die Baseline eine Anzahl von durchschnittlich 718 BrdU-positiven Zellen. In der Kontrollgruppe konnten keine signifikanten Abweichungen über den Zeitverlauf oder gegenüber der Baseline festgestellt werden. Durchschnittlich betrug die Zahl BrdU-positiver Zellen 702 über alle Untersuchungszeitpunkte. Die BL-Gruppe zeigte eine deutliche Abnahme BrdU-positiver Zellen nach der Operation (s. Abbildung 19). Über alle Untersuchungszeitpunkte ergab sich eine signifikant geringere Anzahl BrdU-positiver Zellen, von durchschnittlich 442, gegenüber der Kontrollgruppe ($p < 0,001$). Der Gruppenunterschied war am deutlichsten zwischen Wochen 3 und 7 post OP ($p < 0,05$; s. Abbildung 20). Im Interwochenvergleich zwischen Baseline und Woche 3 ($p = 0,014$) sowie Woche 5 post OP ($p = 0,008$) kam es zu einer signifikanten Abnahme der BrdU-positiven Zellen in der BL-Gruppe (s. Tabelle 10).

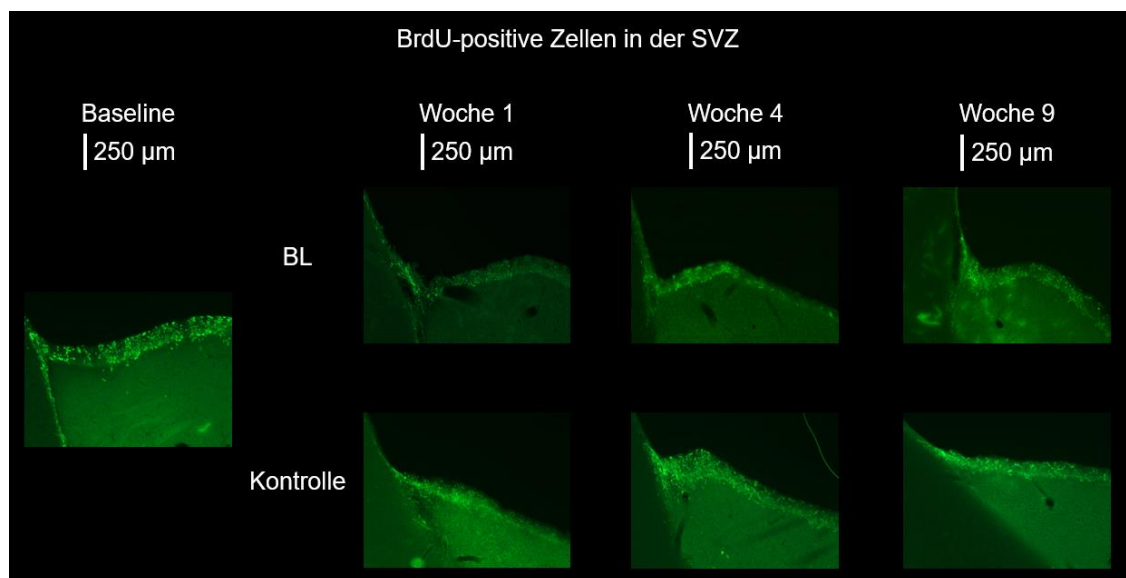


Abbildung 19: Aufnahmen ausgezählter SVZ im Gruppenvergleich

Optisch relativ reduzierte Anzahl BrdU-positiver Zellen in der BL-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe an drei beispielhaften Zeitpunkten; Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen im Programm Zeiss ZEN.

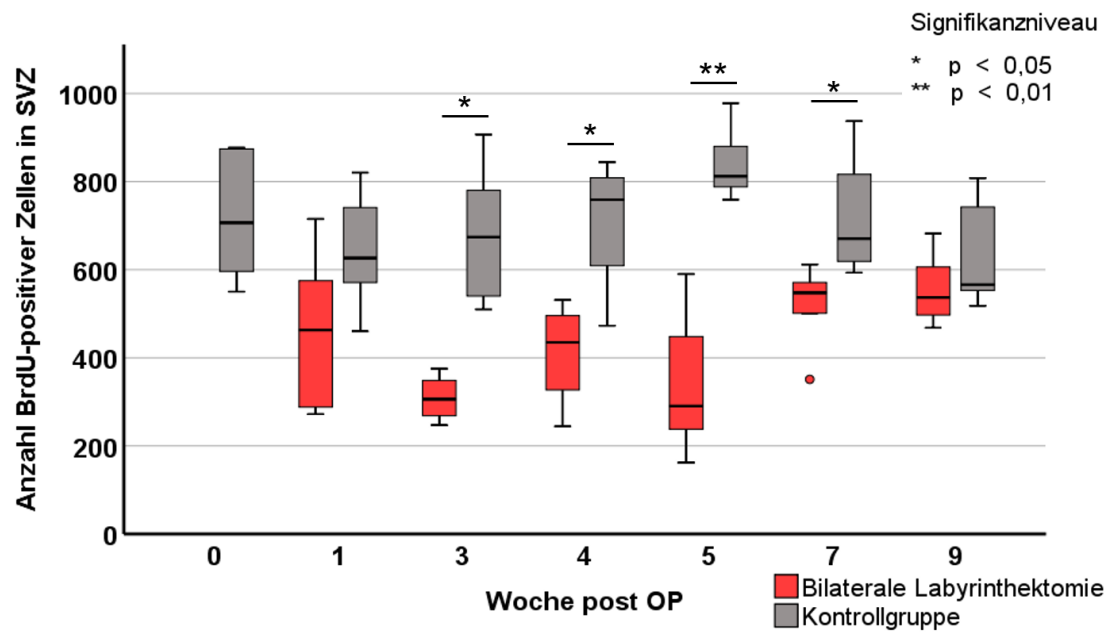


Abbildung 20: Auszählung Subventrikuläre Zone im Gruppenvergleich
 Signifikant reduzierte Zellzahl in der BL-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe zwischen Wochen 3 und 7 post OP.

Gruppe	BrdU-positive Zellen der SVZ pro Woche post OP						
	0	1	3	4	5	7	9
Kontrolle	752,0 ± 56,5	640,8 ± 53,0	682,0 ± 74,2	708,8 ± 81,3	843,4 ± 39,1	717,8 ± 76,0	637,4 ± 57,7
BL		462,7 ± 72,6	308,5 ± 27,0	411,3 ± 61,0	336,5 ± 63,8	521, ± 37,6	554,5 ± 32,6

Tabelle 10: Zellcount SVZ (Mittelwerte mit Standardfehler)

2.2. Gyrus dentatus

Im Gyrus dentatus wurden für die Baseline im Mittel 92 BrdU-positive Zellen gezählt. In der BL-Gruppe waren in einer Gesamtanalyse der postoperativen Untersuchungszeitpunkte mit 43 Zellen gegenüber der Kontrollgruppe (65 Zellen) und der Baseline signifikant weniger BrdU-positive Zellen nachweisbar (jeweils $p < 0,001$). Die deutlichsten Unterschiede zwischen den Gruppen ergaben sich in Woche 3 und 7 post OP (s. Abbildung 21). Zwar kam es in der Kontrollgruppe zwischen Baseline und Woche 1 post OP ebenfalls zu einer Verringerung der BrdU-positiven Zellen ($p = 0,024$), die Reduktion in der BL-Gruppe war aber im Ausmaß stärker (-80%) und länger anhaltend (Woche 3: $p = 0,005$; Woche 4: $p = 0,022$; Woche 7: $p = 0,02$; jeweils im Vergleich zur Baseline, s. Tabelle 11).

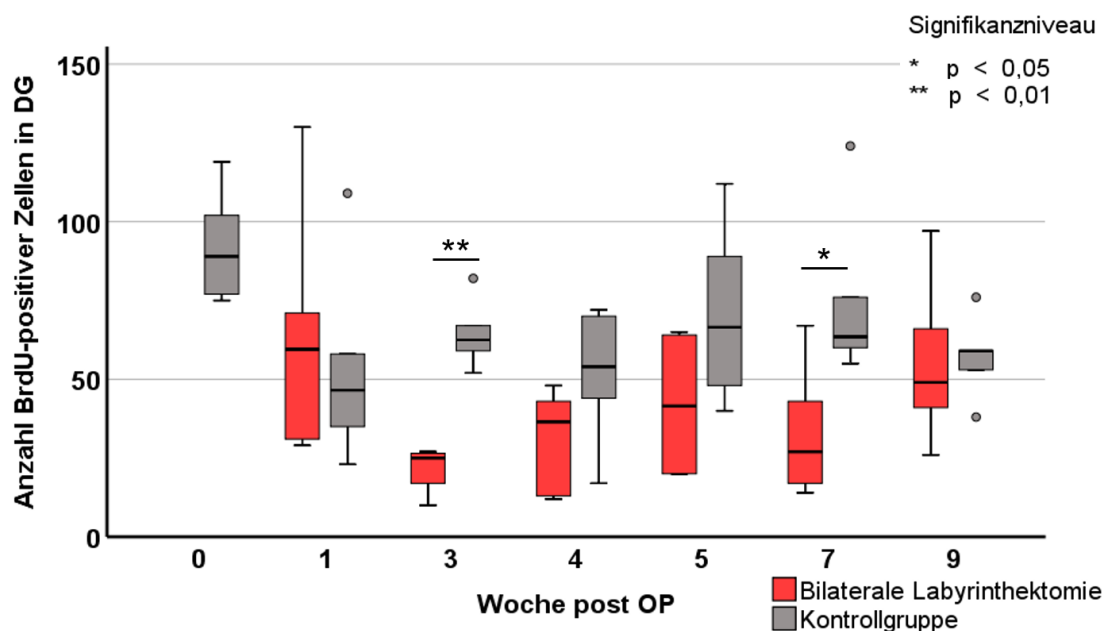


Abbildung 21: Auszählung Gyrus dentatus im Gruppenvergleich

Signifikant reduzierte Zellzahl der BL-Gruppe gegenüber der Kontrollgruppe in Wochen 3 und 7 post OP.

Gruppe	BrdU-positive Zellen des DG pro Woche post OP						
	0	1	3	4	5	7	9
Kontrolle	89,8 ± 8,3	53,0 ± 12,4	66,6 ± 4,1	62,6 ± 5,7	76,4 ± 11,2	78,8 ± 15,7	57,0 ± 6,1
BL		63,3 ± 15,2	21,8 ± 4,0	34,0 ± 7,8	42,0 ± 8,4	32,5 ± 8,1	54,7 ± 10,1

Tabelle 11: Zellcount DG (Mittelwerte mit Standardfehler)

2.3. Nuclei vestibulares

In den vestibulären Kernen wurden zur Baseline durchschnittlich 35 BrdU-positive Zellen identifiziert. Über den gesamten Versuchszeitraum ergab sich für die Kontrollgruppe (gemittelt 36 Zellen) oder die BL-Gruppe (gemittelt 44 Zellen) kein signifikanter Unterschied zur Baseline-Bedingung. Allerdings zeigte sich in Woche 1 post OP eine annähernde Verdopplung der BrdU-positiven Zellen in der BL-Gruppe (s. Tabelle 12). Daraus ergab sich ein signifikanter Gruppenunterschied in Woche 1 und 3 post OP ($p < 0,05$). Ein verzögerter, signifikanter Anstieg der BrdU-positiven Zellen in der BL-Gruppe zeigte sich weiterhin in Woche 9 ($p < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe; s. Abbildung 22).

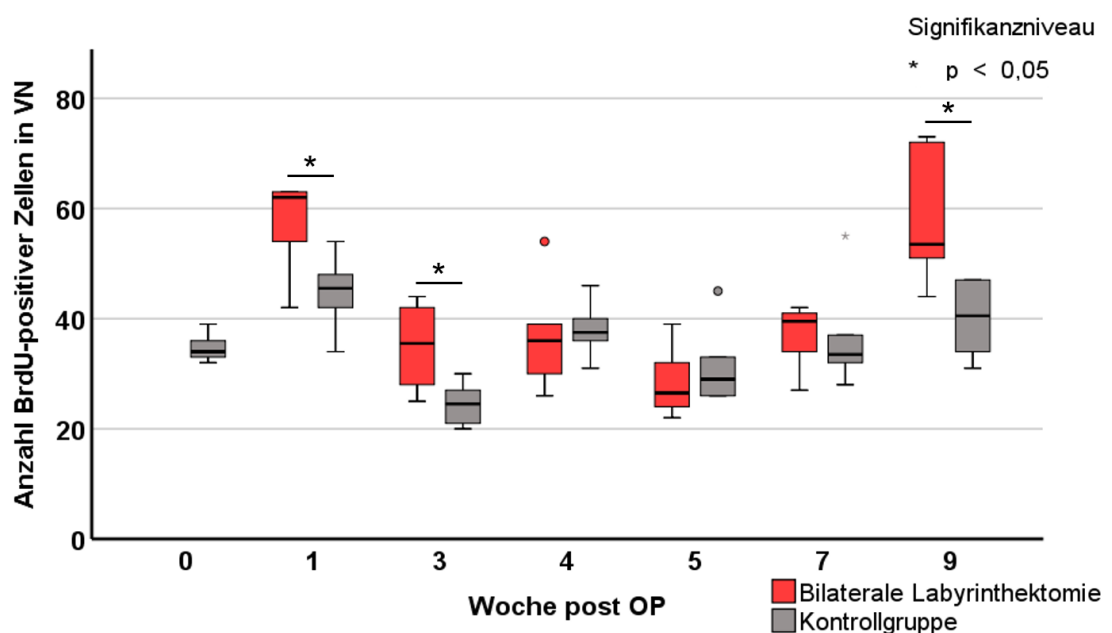


Abbildung 22: Auszählung Nuclei vestibulares im Gruppenvergleich

Signifikant erhöhte Zellzahl der BL-Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe in Woche 1, 3 und 9 post OP.

Gruppe	BrdU-positive Zellen der VN pro Woche post OP						
	0	1	3	4	5	7	9
Kontrolle	34,8 ± 1,2	44,8 ± 2,7	24,4 ± 1,9	37,8 ± 1,0	31,0 ± 3,6	38,3 ± 5,9	38,6 ± 3,0
BL		62,7 ± 6,9	35,0 ± 4,3	39,5 ± 5,7	28,3 ± 2,5	37,2 ± 2,3	57,8 ± 4,9

Tabelle 12: Zellcount VN (Mittelwerte mit Standardfehler)

3. μ PET-Analysen

Die μ PET-Untersuchungen wurden pro Tracer einmal wöchentlich jeweils nach der Verhaltenstestung durchgeführt. Wie in Kapitel III.5.1 beschrieben, wurden statistische Analysen im Programm SPM8 mittels t-Tests durchgeführt. Die Zusammenfassung mehrerer Zeitpunkte erfolgte zur Darstellung von frühen, mittelfristigen und späten Effekten der vestibulären Erkrankung. Im Gruppenvergleich visualisiert die Farbe Blau relative Verluste an Signal und die Farbe Rot relative Signalzunahmen. Eine Farbskalierung ermöglicht eine Darstellung der Gruppendifferenz als Standardabweichung (z-score). Die Bezeichnungen „Verlust“ und „Zunahme“ beschreiben im Folgenden das Signalverhalten der BL-Gruppe in Relation zu den Baseline-Scans der Tiere. Die quantitative Analyse durch Bestimmung der relativen Aktivität in VOIs pro Region erfolgte wie in Kapitel III.4.1 dargestellt.

3.1. Untersuchung der Zellproliferation mittels [^{18}F]FLT

Ein verändertes [^{18}F]FLT-Signal impliziert eine erhöhte oder erniedrigte Zellproliferationsrate neurogener Stammzellen. Ein besonderes Augenmerk bei der Auswertung wurde auf die bei vestibulären Erkrankungen betroffenen neurogenen Nischen SVZ, DG und VN gelegt.

3.1.1. Signalverlust in der subventrikulären Zone

An allen Messtagen konnte in der subventrikulären Zone ein reduziertes [^{18}F]FLT-Signal der BL-Gruppe relativ zur Baseline detektiert werden (s. Abbildung 23). Die quantitative VOI-Analyse bestätigte die Ergebnisse als signifikanten Signalverlust an allen Messtagen post OP im Vergleich zur Baseline ($p=0,017$; s. Abbildung 24). Bereits in Woche 1 post OP wurde das Minimum erreicht. Das entsprach einem signifikanten Verlust im Vergleich zu der Baseline ($p=0,006$). Im weiteren Verlauf stieg das Signal zwischen Woche 1 und Woche 8 post OP signifikant an ($p=0,013$), erreichte jedoch nicht vollständig das Niveau der Baseline (s. Tabelle 13).

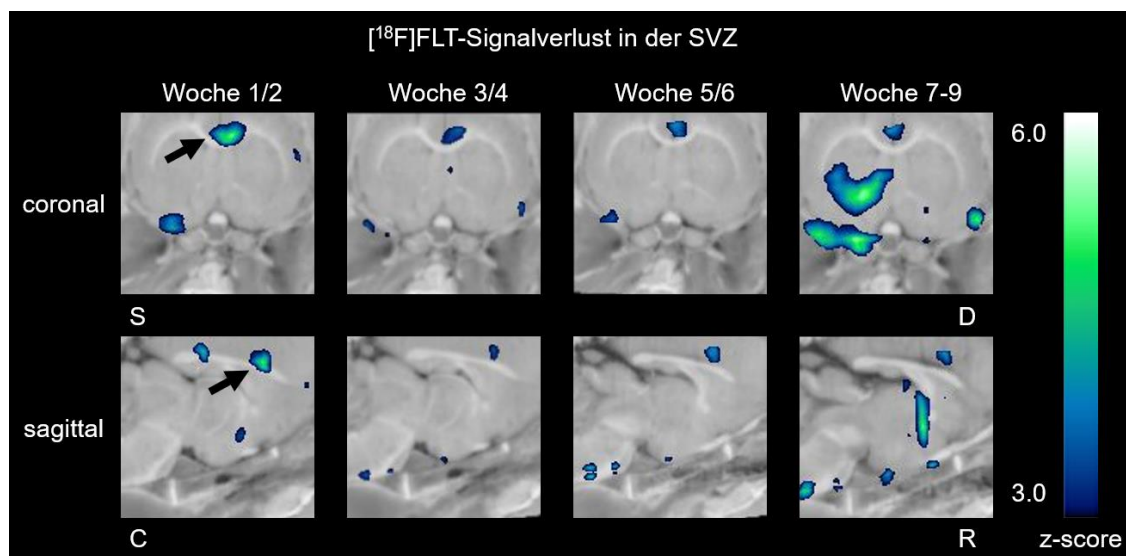


Abbildung 23: Darstellung der SPM8-Analyse für [^{18}F]FLT-Uptake in der SVZ

Statistisch signifikante Signalverluste in der SVZ, dargestellt mit überlagertem Rattenhirn-Atlas im Programm PMOD ($p<0,005$); schwarze Pfeile zeigen auf Signal der SVZ.

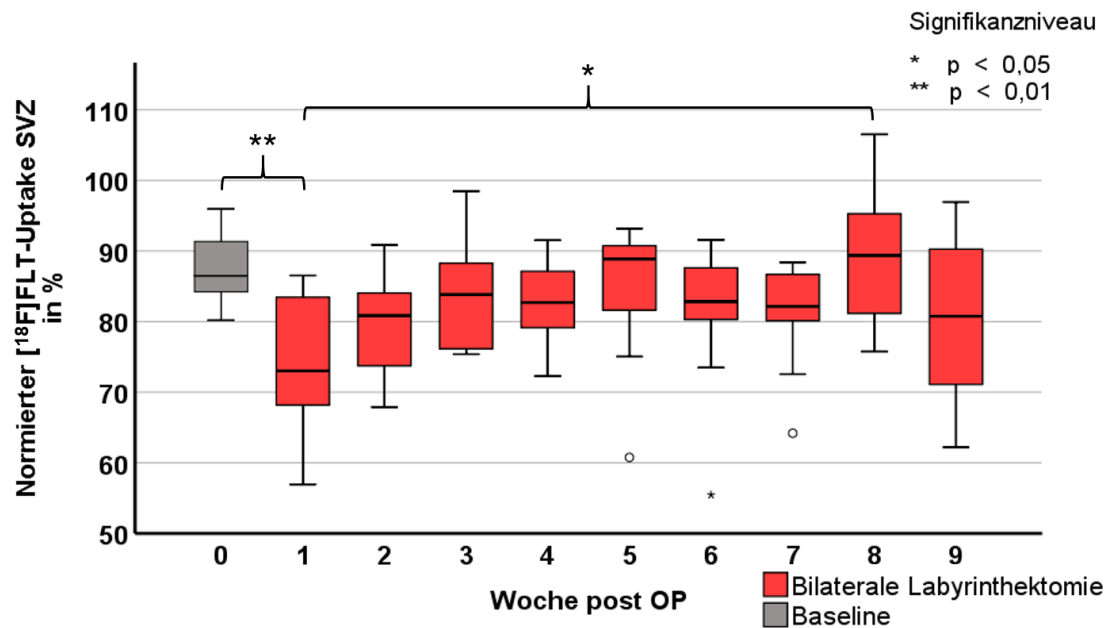


Abbildung 24: $[^{18}\text{F}]$ FLT-VOI-Analyse der SVZ im Zeitverlauf

Signifikanter Signalverlust von Baseline zu Woche 1, danach graduelle Signalzunahme bis Woche 8 post OP.

$[^{18}\text{F}]$ FLT-Signal der SVZ in % pro Woche post OP									
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
90,7 ± 4,7	72,0 ± 3,2	80,1 ± 2,4	81,3 ± 1,8	82,6 ± 1,7	84,1 ± 3,2	84,5 ± 1,7	83,1 ± 4,0	90,2 ± 3,4	78,7 ± 3,7

Tabelle 13: $[^{18}\text{F}]$ FLT-Uptake SVZ (Mittelwerte mit Standardfehler)

3.1.2. Signalverlust im Gyrus dentatus

In Hippocampus und speziell im Gyrus dentatus konnten Signalverluste post OP detektiert werden. In der SPM8-Analyse waren in den Wochen 3/4 und 5/6 post OP bilaterale hippocampale Signalverluste sichtbar (s. Abbildung 25). Eine VOI-basierte Auswertung ergab eine Abnahme des Signals in Woche 1, jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede zur Baseline ($p=0,389$; s. Abbildung 26, Tabelle 14).

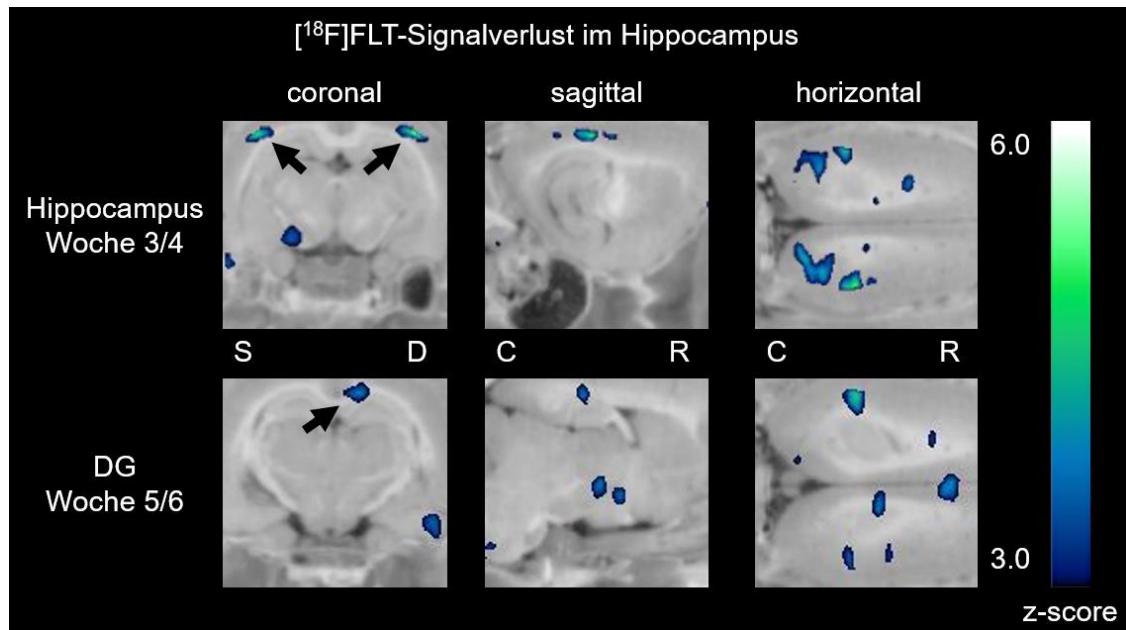


Abbildung 25: Darstellung der SPM8-Analyse für [18F]FLT-Uptake im Hippocampus. Statistisch signifikante Signalverluste in Hippocampus und DG, dargestellt mit überlagertem Rattenhirn-Atlas im Programm PMOD ($p<0,005$); schwarze Pfeile zeigen auf bilaterales hippocampales Signal und rechtsseitiges Signal im DG.

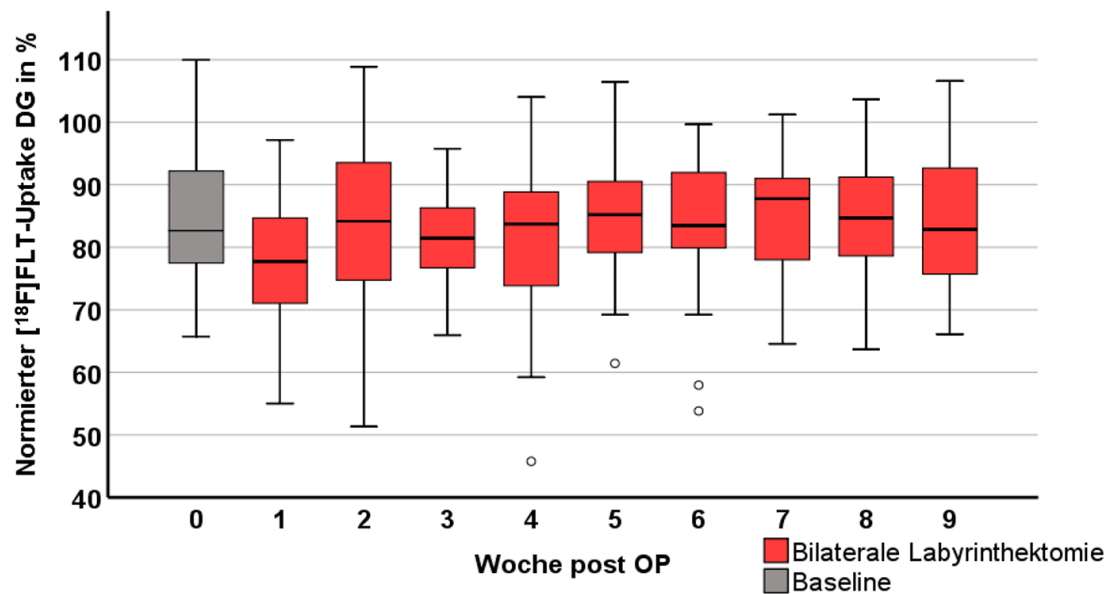


Abbildung 26: $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ -VOI-Analyse des DG im Zeitverlauf

Darstellbarer Signalverlust von Baseline zu Woche 1 post OP, keine Signifikanzen zwischen Untersuchungszeitpunkten.

$[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ -Signal der DG in % pro Woche post OP									
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
87,8	77,2	82,9	81,7	82,8	84,8	84,3	85,2	84,2	85,8
$\pm 2,5$	$\pm 2,8$	$\pm 3,0$	$\pm 1,7$	$\pm 2,7$	$\pm 2,2$	$\pm 2,8$	$\pm 1,7$	$\pm 2,4$	$\pm 2,3$

Tabelle 14: $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ -Uptake DG (Mittelwerte mit Standardfehler)

3.1.3. Signalzunahme in den Nuclei vestibulares

Die vestibulären Kerne zeigten in der SPM8-Analyse eine Erhöhung des Tracersignals gegenüber der Baseline im Bereich der mittelliniennahen vestibulären Kerne in den Wochen 1/2, 3/4 und 7/8 post OP (s. Abbildung 27). Als Nebenfund zeigte sich ein sehr deutliches Tracersignal im Bereich beider Innenohre in Woche 1/2, das im Verlauf leicht rückläufig war. In den VOI-basierten Analysen war eine Zunahme des Uptakes der vestibulären Kerne in einer Gesamtauswertung aller postoperativen Zeitpunkte im Vergleich zur Baseline signifikant ($p=0,028$). Ein relativer Signalanstieg war in der Woche 9 post OP sichtbar, Signifikanzen ergaben sich keine im Zeitverlauf ($p=0,094$; s. Abbildung 28, Tabelle 15).

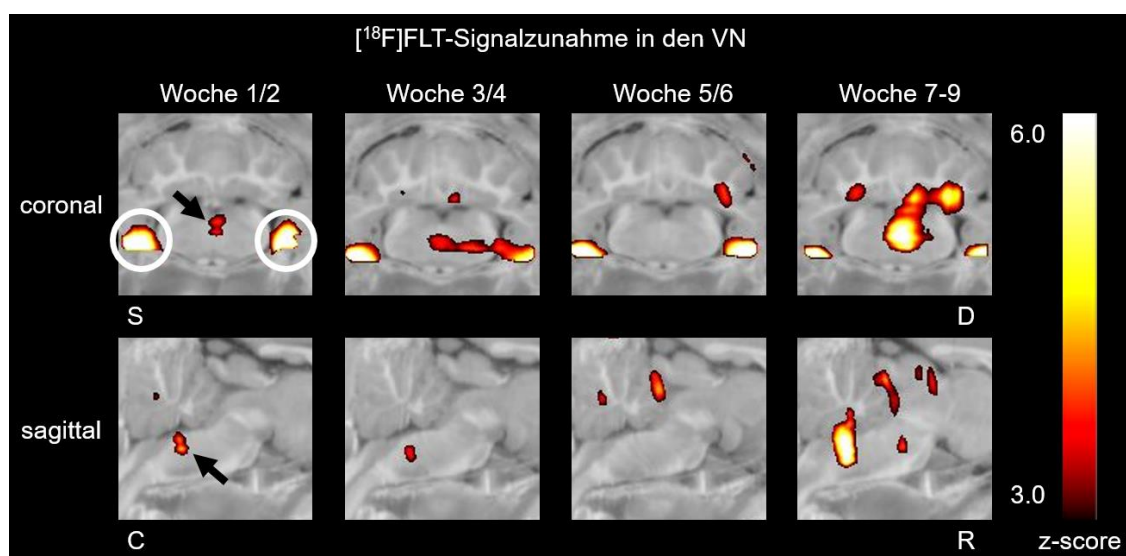


Abbildung 27: Darstellung der SPM8-Analyse für [18F]FLT-Uptake in den VN

Statistisch signifikante Signalzunahme in bilateralen VN, dargestellt mit überlagertem Rattenhirn-Atlas im Programm PMOD ($p<0,005$); schwarze Pfeile zeigen auf Signal in VN; weiße Kreise markieren Signal der Innenohre.

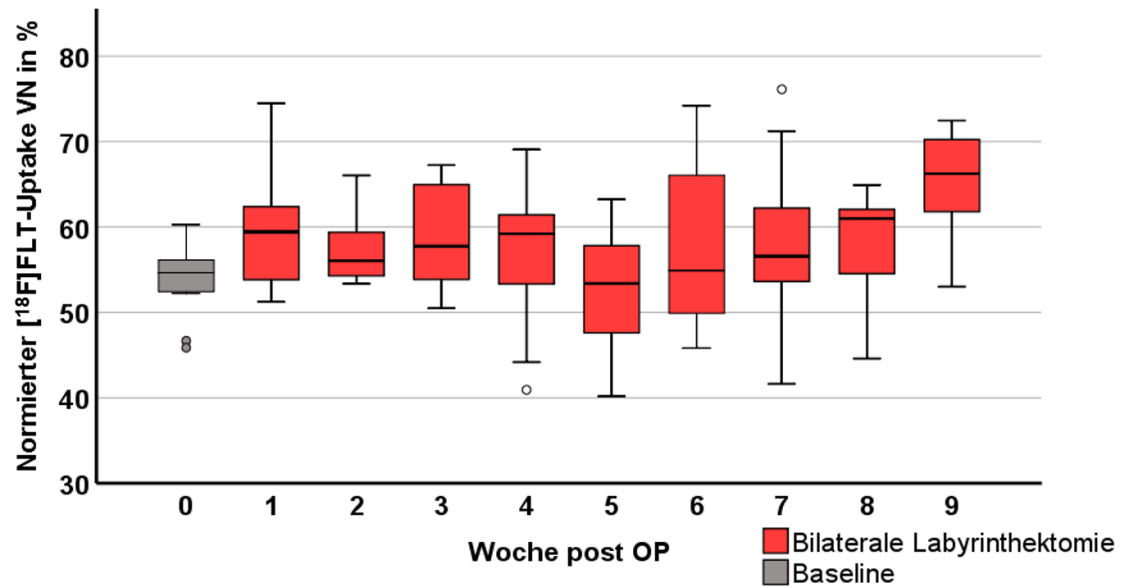


Abbildung 28: $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ -VOI-Analyse der VN im Zeitverlauf

Darstellbare Signalzunahme post OP, keine Signifikanzen zwischen einzelnen Untersuchungszeitpunkten.

$[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ -Signal der VN in % pro Woche post OP									
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
55,0	59,3	57,3	58,9	58,9	53,5	56,5	59,4	57,7	66,0
$\pm 1,2$	$\pm 2,3$	$\pm 1,3$	$\pm 1,8$	$\pm 2,3$	$\pm 2,2$	$\pm 2,9$	$\pm 2,5$	$\pm 1,9$	$\pm 1,9$

Tabelle 15: $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ -Uptake VN (Mittelwerte mit Standardfehler)

3.2. Untersuchung der Mikrogliaaktivierung mittels [^{18}F]GE180

Eine [^{18}F]GE180-Signalzunahme impliziert Mikrogliaaktivierung. Entsprechend der ausgewählten Regionen der [^{18}F]FLT-Analysen, wurden SVZ, DG und VN mittels SPM8-Analysen und VOI-Auswertungen untersucht.

3.2.1. Signalzunahme in der subventrikulären Zone

Auf einen passageren Signalverlust, folgte in der SVZ eine signifikante Signalzunahme, die sich in einer Gesamtanalyse der Messtage post OP gegenüber der Baseline ergab ($p=0,002$). Das maximale Signal war in Woche 8 post OP nachweisbar (s. Abbildung 29, Tabelle 16).

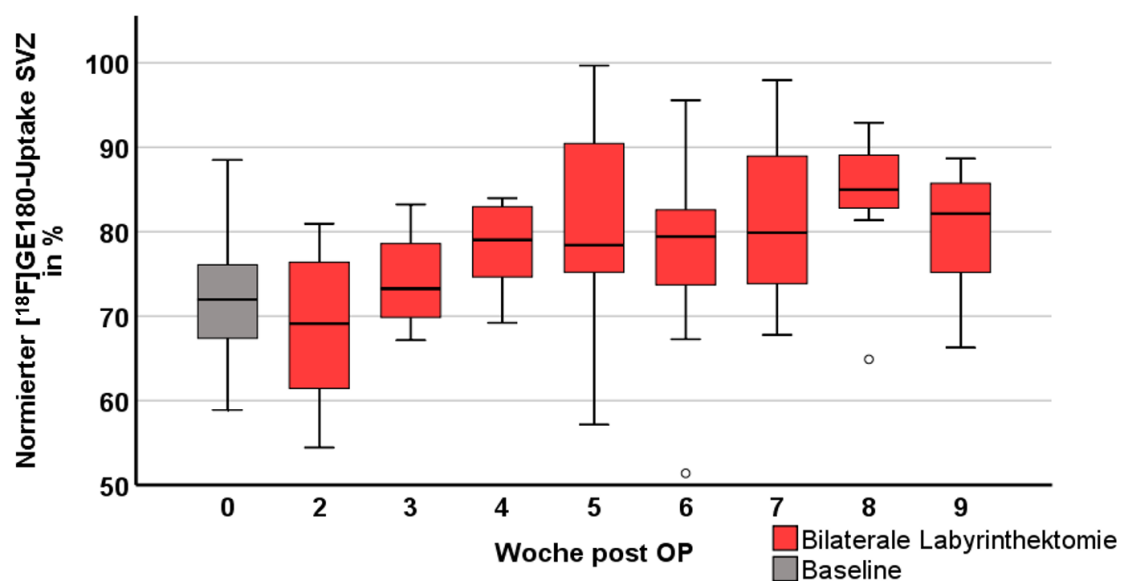


Abbildung 29: [^{18}F]GE180-VOI-Analyse der SVZ im Zeitverlauf

Darstellbare Signalzunahme später Messtage post OP, keine Signifikanzen zwischen Untersuchungszeitpunkten.

[^{18}F]GE180-Signal der SVZ in % pro Woche post OP								
0	2	3	4	5	6	7	8	9
74,3	65,9	74,2	79,2	83,8	80,4	81,4	87,6	80,5
± 2,7	± 3,3	± 3,3	± 2,7	± 3,9	± 5,9	± 4,4	± 2,0	± 4,9

Tabelle 16: [^{18}F]GE180-Uptake SVZ (Mittelwerte mit Standardfehler)

3.2.2. Signalzunahme im Gyrus dentatus

Im DG konnten mittels SPM8-Analysen nur Signalzunahmen dargestellt werden (s. Abbildung 30). Die VOI-Analysen ergaben in der Gesamtanalyse des Versuchsablaufes eine signifikant höhere Mikrogliaaktivierung post OP im Vergleich zur Baseline ($p=0,043$). Auf einen nicht signifikanten Signalverlust von der Baseline zu Woche 3, folgte eine signifikante Signalzunahme von Woche 3 zu Woche 5 post OP ($p=0,019$; s. Abbildung 31, Tabelle 17).

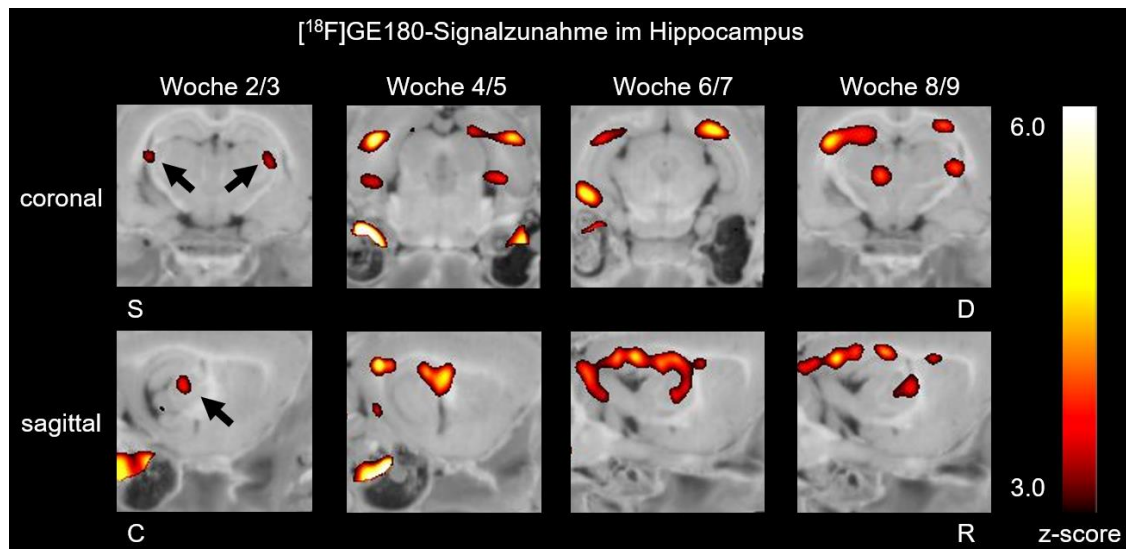


Abbildung 30: Darstellung der SPM8-Analyse für $[^{18}\text{F}]$ GE180-Uptake im Hippocampus

Statistisch signifikante bilaterale Signalzunahme im Hippocampus, dargestellt mit überlagertem Rattenhirn-Atlas im Programm PMOD ($p<0,005$); Pfeile zeigen auf bilaterales hippocampales Signal.

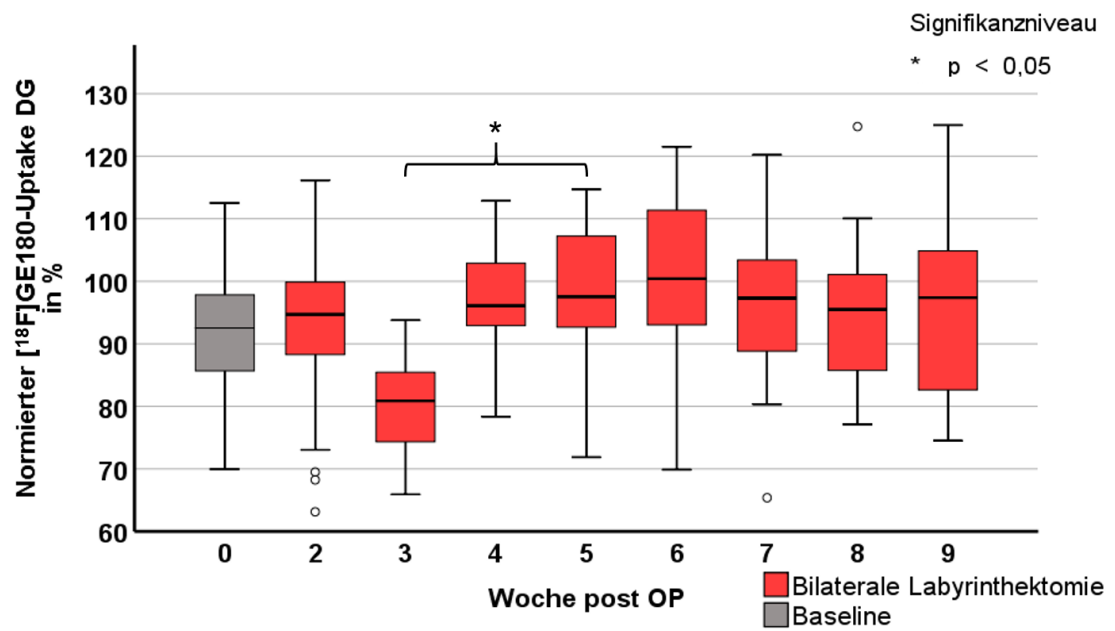


Abbildung 31: $[^{18}\text{F}]$ GE180-VOI-Analyse des DG im Zeitverlauf

Signifikanter Signalanstieg von Woche 3 auf Woche 5 post OP.

$[^{18}\text{F}]$ GE180-Signal der DG in % pro Woche post OP								
0	2	3	4	5	6	7	8	9
83,8	96,7	80,1	98,1	97,9	100,6	96,7	99,8	96,6
$\pm 5,5$	$\pm 2,5$	$\pm 3,1$	$\pm 5,1$	$\pm 3,8$	$\pm 4,4$	$\pm 3,7$	$\pm 4,6$	$\pm 3,4$

Tabelle 17: $[^{18}\text{F}]$ GE180-Uptake DG (Mittelwerte mit Standardfehler)

3.2.3. Signalzunahme in den Nuclei vestibulares

Die vestibulären Kerngebiete und das Vestibulocerebellum konnten in SPM8 an allen Messtagen mit einem erhöhten bilateralen Signal dargestellt werden (s. Abbildung 32). In den VOI-basierten Analysen wurde ein nicht signifikanter Anstieg der Mikroglia-aktivierung in den vestibulären Kernen von der Baseline bis zum Maximum 4 Wochen post OP verzeichnet ($p=0,498$; s. Abbildung 33, Tabelle 18).

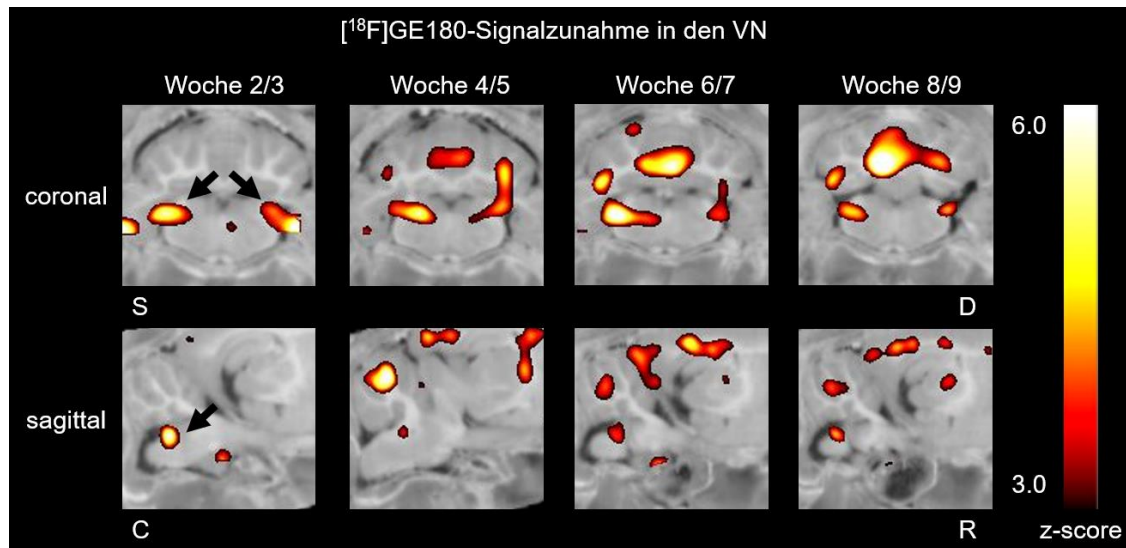


Abbildung 32: Darstellung der SPM8-Analyse für $[^{18}\text{F}]\text{GE180}$ -Uptake in den VN. Statistisch signifikante bilaterale Signalzunahme in den VN, dargestellt mit überlagertem Rattenhirn-Atlas im Programm PMOD ($p<0,005$); schwarze Pfeile zeigen auf bilaterales Signal der VN.

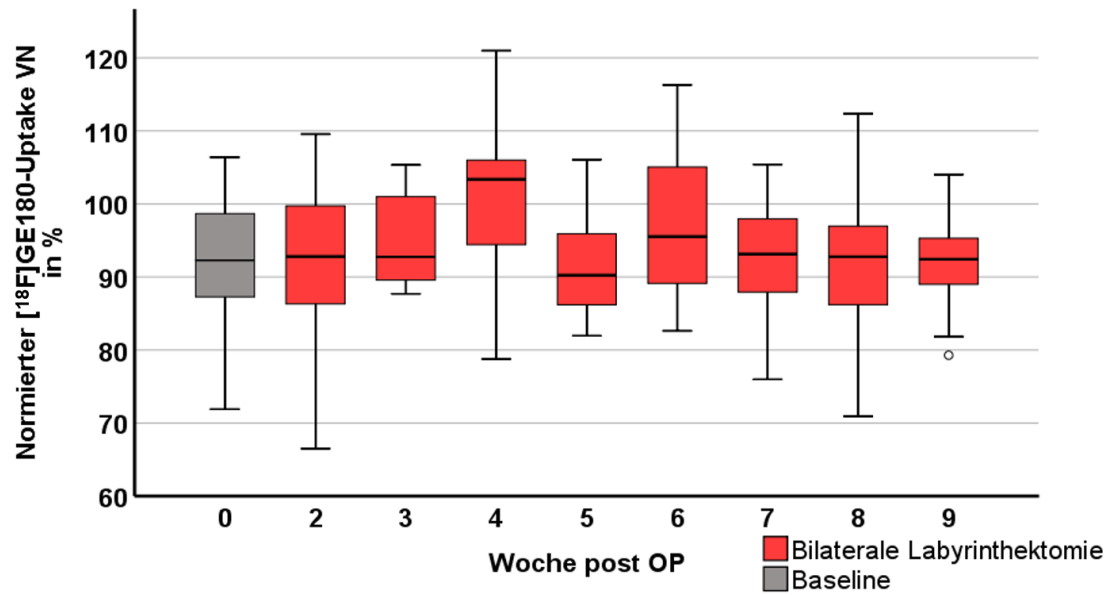


Abbildung 33: $[^{18}\text{F}]\text{GE180}$ -VOI-Analyse der VN im Zeitverlauf

Darstellbarer Signalzunahme post OP, keine Signifikanzen zwischen Untersuchungszeitpunkten.

$[^{18}\text{F}]\text{GE180}$ -Signal der VN in % pro Woche post OP								
0	2	3	4	5	6	7	8	9
91,1	93,4	95,0	101,3	91,8	97,0	96,0	93,3	90,7
$\pm 1,8$	$\pm 2,8$	$\pm 2,3$	$\pm 4,9$	$\pm 1,9$	$\pm 3,4$	$\pm 2,5$	$\pm 2,2$	$\pm 2,5$

Tabelle 18: $[^{18}\text{F}]\text{GE180}$ -Uptake VN (Mittelwerte mit Standardfehler)

4. Korrelationsanalysen

Die Korrelationsanalysen erfolgten im Programm SPSS mit dem Spearman-Rho-Test und zweiseitiger Auswertung. Zunächst wurde der [^{18}F]FLT-Uptake in den Regionen SVZ, DG und VN mit der Zahl der BrdU-positiven Zellen in den entsprechenden histologischen Schnitten korreliert. Dann erfolgten Korrelationsanalysen des Uptakeverhaltens der Tracer [^{18}F]FLT und [^{18}F]GE180 mit den Verhaltensparametern Erfolgsquote, Geschwindigkeit und Bewegungsverhalten im T-Maze, um Aussagen über die klinische Relevanz der μPET -Ergebnisse treffen zu können. Zusätzlich wurde eine SPM8-basierte Kovariatenanalyse der μPET -Bilder gegenüber den Verhaltensparametern zur grafischen Darstellung über das gesamte Gehirn durchgeführt. Eine Überprüfung auf mögliche Abhängigkeiten der Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung fand durch Korrelationsanalysen der korrespondierenden [^{18}F]FLT- und [^{18}F]GE180-VOI-Analysen statt.

4.1. μ PET und Histologie

Da die Tierzahlen der Untersuchungsgruppen im $[^{18}\text{F}]\text{FLT-}\mu\text{PET}$ und in der BrdU-Histologie wesentlich voneinander abwichen, wurde eine Analyse der gemittelten Werte aller Tiere pro Messtag durchgeführt (s. Gruppenverteilung in Tabelle 4). Die $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ -Signalwerte in den vestibulären Kernen korrelierten stark positiv mit der Zahl der BrdU-positiven Zellen in dieser Region ($r=0,857$; $p=0,014$; s. Abbildung 34). In den Strukturen SVZ und DG, die histologisch und im μPET korrespondierende Signalverluste zeigten, konnten keine signifikanten Korrelationen nachgewiesen werden.

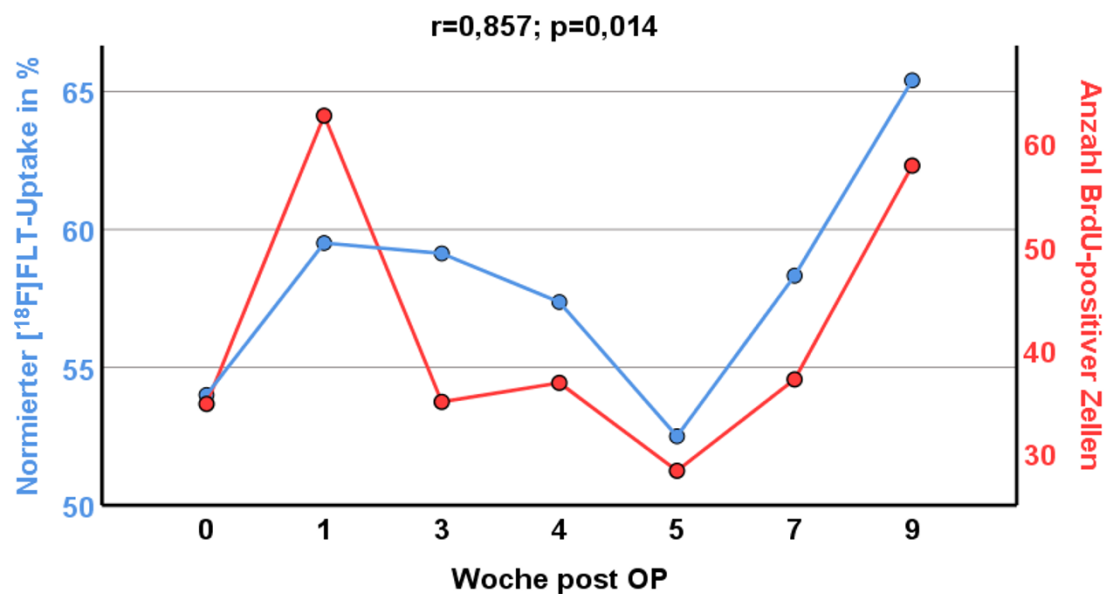


Abbildung 34: Korrelationsanalyse $[^{18}\text{F}]\text{FLT-}\mu\text{PET}$ und Histologie für VN
Starke positive Korrelation von $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ -Uptake und histologischem BrdU-positivem Zellcount in den vestibulären Kernen.

4.2. μ PET und Verhaltensparameter:

Die μ PET-Ergebnisse wurden mit den Verhaltensparametern Erfolgsquote, Geschwindigkeit und Bewegungsverhalten pro Messtag korreliert.

4.2.1. [^{18}F]FLT-Uptake

Die Korrelationsanalysen der Erfolgsquote mit dem [^{18}F]FLT-Uptake ergaben eine positive Korrelation mit $r=0,347$ ($p=0,021$) in Woche 1 und 2 post OP im Bereich des DG. In den Wochen 7, 8 und 9 post OP wurde eine signifikante negative Korrelation im Bereich der vestibulären Kerne detektiert ($r=-0,315$; $p=0,001$). Korrespondierend ergab sich ein früher positiver Korrelationseffekt im Hippocampus und ein später negativer Effekt in den vestibulären Kernen bei der Kovariatenanalyse (s. Abbildung 35).

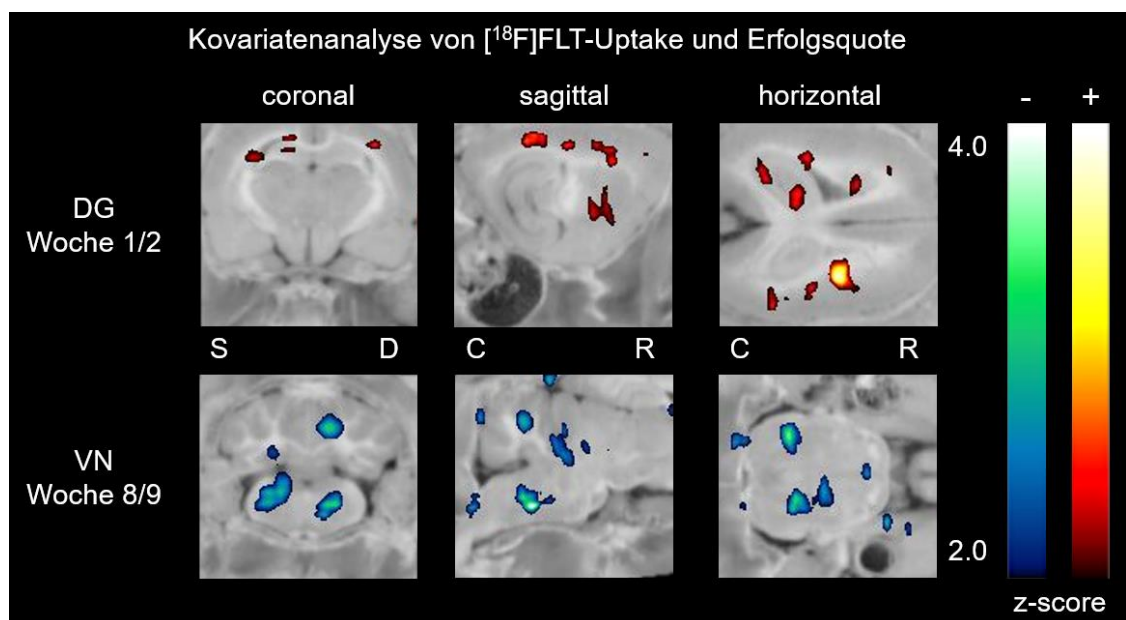


Abbildung 35: SPM8-Kovariatenanalyse von [^{18}F]FLT-Uptake und Erfolgsquote

Statistisch signifikante positive Korrelation bilateral in DG über Woche 1/2 post OP, statistisch signifikante negative Korrelation bilateral in VN über Woche 8/9 post OP, dargestellt mit überlagertem Rattenhirn-Atlas im Programm PMOD ($p<0,05$).

4.2.2. [^{18}F]GE180-Uptake

In den Korrelationsanalysen zwischen [^{18}F]GE180-Uptake und dem Verhaltensparameter Geschwindigkeit, zeigte sich eine positive Korrelation des Uptakes im Vestibulocerebellum ($r=0,496$, $p=0,004$), die durch die grafische SPM8-Analyse bestätigt wurde (s. Abbildung 36). Mit dem Verhaltensparameter Erfolgsquote zeigte sich eine negative Korrelation in den VOIs der VN ($r=-0,395$; $p=0,025$) in Woche 2/3 post OP. An späten Messtagen korrelierten der [^{18}F]GE180-Uptake und die Verhaltensparameter Geschwindigkeit ($r=0,502$, $p<0,001$) und Bewegungsverhalten ($r=0,468$; $p=0,001$) positiv im Hippocampus.

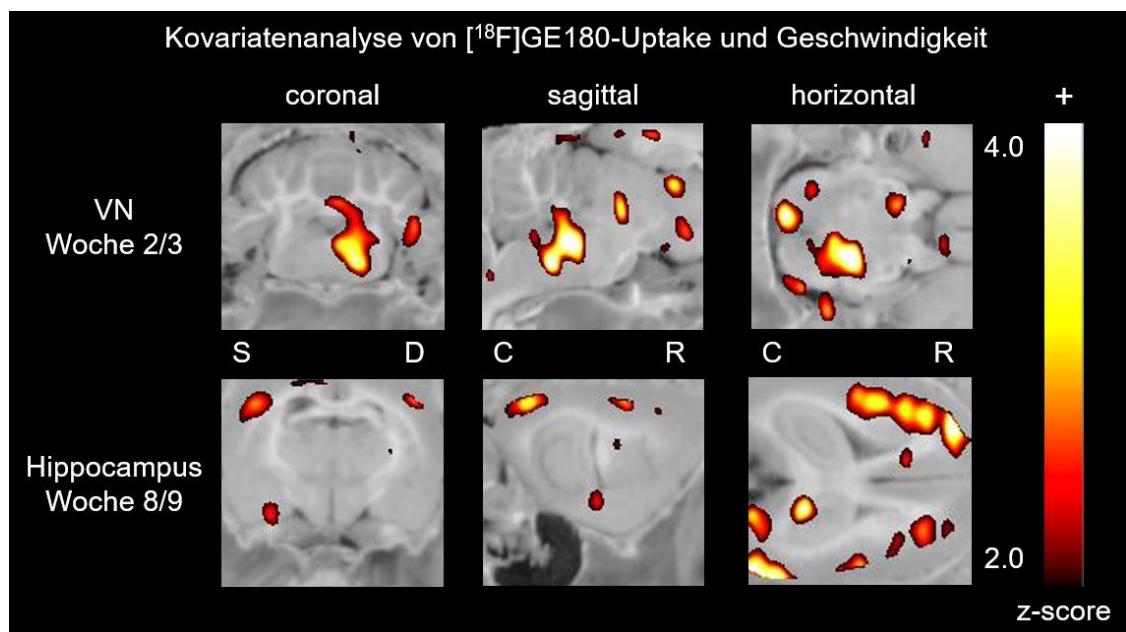


Abbildung 36: SPM8-Kovariatenanalyse von [^{18}F]GE180-Uptake und Geschwindigkeit

Statistisch signifikante positive Korrelation im Vestibulocerebellum über Woche 2/3 post OP, statistisch signifikante positive Korrelation bilateral im Hippocampus über Woche 8/9 post OP, dargestellt mit überlagertem Rattenhirn-Atlas im Programm PMOD ($p<0,05$).

4.3. $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ und $[^{18}\text{F}]\text{GE180}$

Die Korrelationsanalyse der beiden Tracer wurde pro VOI ausgewertet. Über den gesamten Messzeitraum ergaben sich signifikante leicht positive Korrelationen in der SVZ ($r=0,234$; $p=0,026$) und im Hippocampus ($r=0,160$; $p=0,030$). Auf die Untersuchungszeitpunkte aufgeteilt konnte in Woche 7 post OP eine starke positive Korrelation ($r=0,776$; $p=0,003$) beider Tracer in der SVZ dargestellt werden (s. Abbildung 37). Auch für die Messwerte des Hippocampus wurde in Woche 9 post OP ein Effekt beobachtet ($r=0,425$; $p=0,028$). In den vestibulären Kernen ergaben sich positive Korrelationen in Woche 4 ($r=0,656$; $p=0,006$) und Woche 9 post OP ($r=0,518$; $p=0,009$).

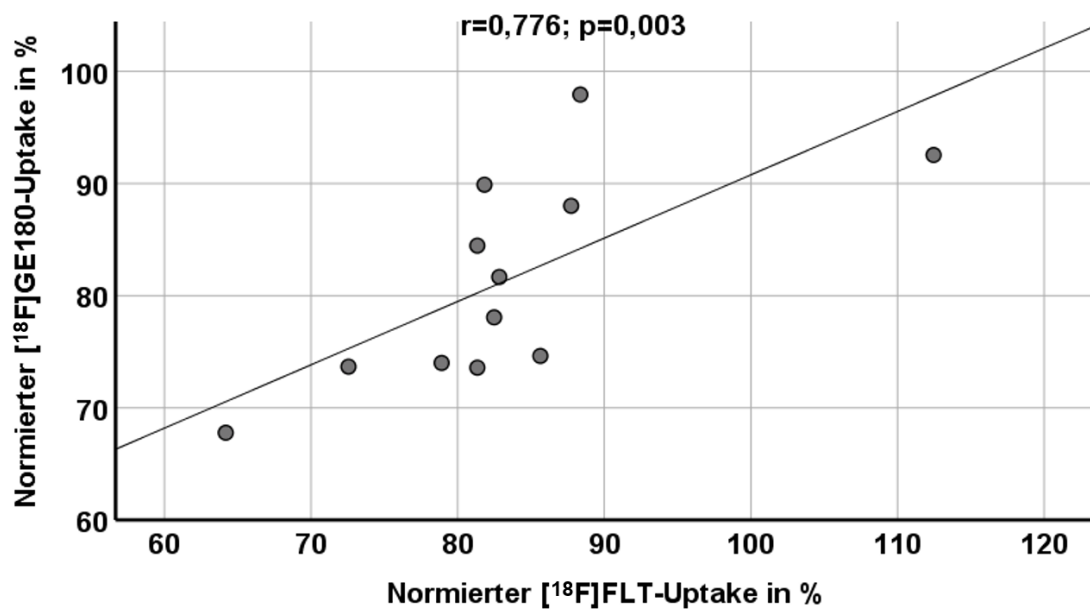


Abbildung 37: Repräsentative Darstellung einer VOI-Korrelationsanalyse von $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ - und $[^{18}\text{F}]\text{GE180}$ -Uptake

Streudiagramm der korrespondierenden μPET -Analysen der VOI der SVZ in Woche 7 post OP von 12 Ratten mit Anpassungslinie.

V. DISKUSSION

Der Bedarf vestibuläre Erkrankungen genauer zu verstehen ist aufgrund der vielfältigen Auswirkungen auf betroffene Menschen und Tiere enorm. Die vorhandenen Therapieoptionen verdeutlichen, dass das bisher gesammelte Wissen über Schwindelerkrankungen unvollständig ist. Um gute Therapiemöglichkeiten zu entwickeln, ist es unerlässlich die Plastizitätsprozesse der cerebralen vestibulären Netzwerke nach einer Innenohrschädigung umfassend zu verstehen. Zielsetzung dieser Arbeit war demzufolge, durch Verhaltens- und μ PET-Analysen im Rattenmodell, das Wissen um die cerebrale Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung, als mögliche funktionell relevante Plastizitätsprozesse bei der bilateralen Vestibulopathie, zu verbessern.

Ansätze für neue Therapien basieren auf einem Verständnis der zentralen Netzwerkstrukturen des vestibulären Systems. Es werden vier Hauptwege diskutiert, die vestibuläre Informationen zum Cortex leiten: der vestibulo-thalamo-cortikale Signalweg zum Hippocampus; der Signalweg vom dorsalen tegmentalen Nucleus über den lateralen mammillären Nucleus und den anterodorsalen Nucleus des Thalamus zum entorhinalen Cortex; der Signalweg über den Nucleus reticularis pontis oralis, den supramammillären Nucleus und das mediale Septum zum Hippocampus und der Signalweg über das Cerebellum und den ventralen lateralen Nucleus des Thalamus. Die vestibulären Projektionsareale werden durch selektive vestibuläre Stimulationen aktiviert (Hitier et al., 2014). Der Hippocampus erstellt über head direction cells, place cells, grid cells und border cells räumliche Kartierungen der Umwelt. Der vestibuläre Eingang ist besonders wichtig für die kontinuierliche Funktion von place cells und head direction cells (Stackman et al., 2002). Bei vestibulären Funktionseinschränkungen kann daher die räumliche Repräsentation und das räumliche Lernen gestört sein (Hitier et al., 2014).

1. Veränderung des Orientierungs- und Lokomotionsverhaltens nach bilateraler Labyrinthektomie

Der bilaterale Verlust vestibulärer Afferenzen resultiert in der Aufhebung der vestibulo-okulären und vestibulo-spinalen Reflexe, was sich bei der Ratte in unphysiologischen Lokomotions- und Haltungsmustern äußert (Goddard et al., 2008). Auch die Exploration und Navigation im Raum ist durch den Verlust der vestibulären Information gestört. Das T-Maze wird als zuverlässiger Test eingesetzt, um die räumliche Orientierungsfähigkeit von Versuchstieren zu bewerten und hippocampale Dysfunktionen zu identifizieren (Wenk, 1998; Roschlau & Hauber, 2017). Durch eine Video-gestützte Bewegungsanalyse können zusätzlich Verhaltensparameter des Lokomotionsverhaltens aufgezeichnet und ausgewertet werden. Die Erfolgsquote im T-Maze in der Kontrollgruppe lag in der vorliegenden Arbeit bei nahezu 75% und entspricht damit dem in der Literatur beschriebenen Entscheidungsverhältnis für spontanes Alternieren (Deacon & Rawlins, 2006). Im Vergleich dazu zeigte die BL-Gruppe eine deutlich reduzierte Erfolgsquote, die annähernd der Zufallswahrscheinlichkeit entsprach, und ein verändertes Bewegungsverhalten mit einer höheren Lokomotionsgeschwindigkeit. Die bilaterale vestibuläre Läsion beeinträchtigte weder die Motivation noch die zur Erfüllung der Aufgabe im T-Maze nötige Motorik der Ratten.

1.1. Beeinträchtigung des räumlichen Gedächtnisses durch bilaterale Labyrinthektomie

Die BL-Gruppe erzielte im Gegensatz zur Vergleichsgruppe ein signifikant schlechteres Ergebnis beim erfolgreichen Aufsuchen der Belohnung im T-Maze. Die Beeinträchtigung der BL-Gruppe ist dabei vergleichbar mit Ergebnissen von Ratten, denen hippocampale Läsionen zugefügt wurden. Ratten mit hippocampalen Läsionen zeigten ausgeprägte Orientierungsdefizite mit einer Störung der Distanz- und Richtungsabschätzung (Whishaw & Gorny, 1999). Eine Studie von Zheng et al. (2007) beschrieb Erfolgsquoten im T-Maze nach bilateraler chirurgischer Labyrinthektomie, mit einem Messzeitpunkt drei Wochen post OP, die sich ähnlich dieser Studie im Bereich einer zufälligen Entscheidung befanden. Weitere Ergebnisse von Zheng et al. (2007) deuten auf eine verbesserte Erfolgsquote im T-Maze fünf Monate post OP hin, die möglicherweise mit der Heilung vestibulärer Bahnen einhergeht. Aufgrund der kürzeren Untersuchungsdauer dieser Arbeit von neun Wochen konnte dies nicht bestätigt werden. Da das Entscheidungsverhalten der BL-Gruppe nahezu dem Zufall entsprach und sich im Untersuchungszeitraum nicht steigerte, kann geschlussfolgert werden, dass die Ratten über mindestens zwei Monate post OP die Fähigkeit verlieren,

reflektierte Entscheidungen zur Erkundung ihrer Umgebung zu treffen. Eine mögliche Erklärung könnte die Störung der Funktion hippocampaler place cells nach BL sein, die räumliche Kartierungen verarbeiten (Muller, 1996). Head direction cells geben dem Gehirn weiterhin Rückschluss auf die Ausrichtung und Bewegungsrichtung des Tieres (Taube, 1998). Durch BL kann sowohl die Stabilität der place cells als auch die Modulationsfähigkeit der head direction cells gestört werden (Stackman & Taube, 1997; Russell et al., 2000). Patienten mit bilateraler Vestibulopathie zeigen korrespondierend eine Störung der Entwicklung kognitiver räumlicher Karten im Hippocampus, die sich in Defiziten des räumlichen Gedächtnisses und der Navigation beim Fehlen visueller Landmarken widerspiegelt (Strupp et al., 2008; Zwergal et al., 2011). Stackman und Herbert (2002) berichteten von Ratten, die nach BL nur gestörte Integrationswege bei einer Navigationsaufgabe zeigten, wenn keine externen Orientierungspunkte vorhanden waren. Die Orientierung ohne visuelle Landmarken, die als allozentrische Orientierungsstrategie bezeichnet wird, hängt überwiegend von hippocampalen Funktionen ab (Burgess et al., 2002). Auch das T-Maze testet eine allozentrische und damit hippocampale Navigationsstrategie. Auf Basis der vorliegenden Studienergebnisse mit einer reduzierten Orientierungsleistung der Ratten im T-Maze wird die Hypothese untermauert, dass die Störung vestibulärer Eingänge in hippocampalen Hirnstrukturen nach BL eine wesentliche Ursache der gestörten räumlichen Orientierung darstellt.

1.2. Gestörtes Lokomotionsverhalten durch bilaterale Labyrinthektomie

Um die reduzierte Verarbeitung sensorischer Information auszugleichen und dynamische Stabilität zu erreichen, bewegen sich Patienten mit Schwindelerkrankungen tendenziell schneller (Schniepp et al., 2012). Analog ergab sich in der aktuellen Studie für alle Lokomotionsparameter (Distanz, Geschwindigkeit, Bewegungsverhalten) in der BL-Gruppe eine deutlich erhöhte Bewegungsaktivität über den gesamten Untersuchungszeitraum (s. Abbildung 15, Kapitel IV.1.2.4). Das gesteigerte Lokomotionsverhalten im T-Maze stimmt weitgehend mit früheren Beobachtungen von Eilles (2016) im OpenField und Catwalk nach BL überein. Im OpenField, in dem die Ratten ihre Umgebung frei explorieren, zeigten die BL-Tiere im Vergleich zu Kontrollen eine erhöhte Bewegungsgeschwindigkeit. Im Gegensatz dazu glich sich die Lokomotionsgeschwindigkeit der BL-Tiere im Catwalk (bei dem keine räumliche Orientierung nötig ist) nach fünf Wochen post OP der Kontrollgruppe an. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Defizite der räumlichen Erinnerung und Orientierung aufgrund eines ungerichteten Explorationsverhaltens eine Hyperlokomotion auslösen können (Eilles, 2016). Da das T-Maze ebenfalls die Orientierung

im Raum getestet, kann die gesteigerte Lokomotion in der vorliegenden Studie als Hinweis auf räumliche Desorientierung gewertet werden. Die Entwicklung der Ergebnisse für das Bewegungsverhalten passt ebenfalls zur Beobachtung im OpenField. Die Theorie, der durch Orientierungsdefizite hervorgerufenen Hyperlokomotion, kann somit durch die gesammelten Daten bestätigt werden. Allerdings zeigte sich trotz persistierender Orientierungsdefizite eine partielle Angleichung der Lokomotionsgeschwindigkeit zwischen der BL-Gruppe und der Kontrollgruppe zu späteren Untersuchungszeitpunkten. Es kann daher vermutet werden, dass eine funktionelle Regeneration der cerebralen Lokomotionskontrolle dennoch über einen längeren Zeitraum möglich ist. Stimmig dazu konnte auch bei Eilles (2016) eine partielle Kompensation von Lokomotionsparametern ab Woche 5 post OP im Catwalk abgebildet werden.

1.3. T-Maze Lokomotionsparameter als Surrogatmarker für Raumorientierung

Die festgestellten Defizite in der räumlichen Orientierung erkrankter Ratten konnten mit dem Parameter „Erfolgsquote“ im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe abgebildet werden. Die ermittelten Lokomotionsparameter korrelierten zu verschiedenen Untersuchungszeitpunkten mit der Erfolgsquote. Die Ergebnisse legen nahe, dass Lokomotionsparameter als Marker für die Fähigkeit zur Raumorientierung genutzt werden können, was den Aufwand der Testung reduzieren würde. Die Einzelparameter Geschwindigkeit und Bewegungsverhalten korrelierten nur zu späteren Messzeitpunkten negativ mit der Orientierungsfähigkeit nach bilateralem vestibulärem Schaden. Hingegen korrelierte die zurückgelegte Distanz im T-Maze in Woche 3 und Woche 7 post OP mit der Erfolgsquote. Es scheint, als ob für vestibuläre Modelle kein einzelner Lokomotionsmarker im T-Maze die räumliche Orientierung hinreichend abbilden kann. Eventuell lassen sich diese Erkenntnisse aber auf andere Verhaltensuntersuchungen (z.B. OpenField) übertragen, um anhand von Lokomotionsparametern Rückschlüsse auf die Orientierungsfähigkeit bei vestibulären Erkrankungen zu ziehen.

2. Zellproliferation nach vestibulärem Schaden

Durch die Methoden der Immunhistochemie mit BrdU sowie der μ PET-Untersuchung mit dem Radiotracer [^{18}F]FLT konnte in dieser Studie eine Zellproliferation oder Mobilisierung neuraler Stammzellen in den neurogenen Zonen (SVZ, DG und VN) im Rattenhirn visualisiert werden, die mit anderen Vorarbeiten vergleichbar ist (Rueger et al., 2010; Zheng et al., 2010; Tamura et al., 2016). In der BL-Gruppe ergaben sich gegenüber der Kontrollgruppe eine systematisch veränderte Zellproliferation in hippocampalen Strukturen sowie in den vestibulären Kernen, die mittels μ PET visualisiert und quantifiziert werden konnte. Dabei zeigte sich eine gute Übereinstimmung mit den histologischen Untersuchungen.

2.1. Reduzierte Zellproliferation in hippocampalen Strukturen

Frühere Studien zeigen einen Einfluss einer bilateralen vestibulären Inaktivierung auf die hippocampale Zellproliferation und Neuroneogenese, wobei die beschriebenen Effekte uneinheitlich sind. Zheng et al. (2012) zeigten nach bilateraler chirurgischer Labyrinthektomie eine tendenziell vermehrte hippocampale Neuroneogenese in Ratten, jedoch wurde bei Patienten mit bilateraler Vestibulopathie eine unvereinbare hippocampale Atrophie festgestellt (Brandt et al., 2005). Diese Diskrepanz wurde vor allem auf Spezies- und Wahrnehmungsunterschiede zurückgeführt (Zheng et al., 2012). In der aktuellen Studie zeigte sich die Zellteilung in den neurogenen Nischen SVZ und DG über den gesamten Untersuchungszeitraum reduziert. Im [^{18}F]FLT- μ PET ergab sich über den gesamten Zeitverlauf ein signifikanter Signalverlust in der SVZ nach BL. Korrespondierend fanden sich auch in der μ PET-VOI-Analyse und in der Immunhistochemie im Bereich der SVZ signifikant verminderte Zellteilungsraten nach BL. Für den DG wurde histologisch eine reduzierte Proliferationsrate nach BL festgestellt. Auch in der Kontrollgruppe war die Zellproliferation vorübergehend reduziert, allerdings zu einem geringeren Ausmaß. Der DG scheint somit auch sensitiv gegenüber perioperativen Reizen, die durch die Sham-OP hervorgerufen werden. Die Darstellung eines Signalunterschiedes im μ PET für den DG war eine Herausforderung, was unter anderem an einer um 90% niedrigeren Zellproliferationsrate (im Vergleich zur SVZ) liegen könnte. Im Hippocampus und Bereich des DG konnten im μ PET reduzierte Signalaraten dargestellt werden, wobei sich zwischen den Messzeitpunkten die anatomische Lokalisation innerhalb der hippocampalen Formation veränderte. Die Ergebnisse von μ PET und Histologie könnten daher der Theorie einer gestörten Neuroneogenese nach vestibulärer Schädigung entsprechen. Eine verminderte Zellteilungsrate würde demnach die hippocampale Plastizität reduzieren und somit zu

einer Aufrechterhaltung des beeinträchtigten räumlichen Gedächtnisses und der räumlichen Orientierung beitragen (Shen et al., 1997). Dafür spricht auch, dass die BL-Tiere im Untersuchungszeitraum kein relevantes Lernverhalten im T-Maze zeigten. Der Vergleich mit den Verhaltensparametern zeigte darüber hinaus, dass die Erfolgsquote im T-Maze mit dem Ausmaß der residuellen Zellproliferation im Hippocampus positiv korrelierte. Weiterhin konnte ein negativer Zusammenhang des hippocampalen [^{18}F]FLT-Uptakes mit dem gesteigerten Bewegungsverhalten der BL-Gruppe im T-Maze festgestellt werden, das als Maß für die räumliche Desorientierung gewertet werden kann (s. Kapitel V.1.2). Über die Mechanismen, die der reduzierten Zellproliferation im DG und SVZ nach BL zugrunde liegen, kann nur spekuliert werden. Eine mögliche Erklärung könnte in einer elektrophysiologischen Dysfunktion im Hippocampus nach BL durch veränderte Feuerraten von place und head direction cells liegen. Weiterhin kommt es nach BL zu ausgeprägten Veränderungen der Neurotransmission in der hippocampalen Formation, die auch in die Regulation der Neuroneogenese eingebunden sind (z.B. Glutamat, Acetylcholin) (Horii et al., 1994; Smith & Zheng, 2013; Aitken et al., 2016).

Eine veränderte Zellproliferation könnte auch für die strukturellen Veränderungen verantwortlich sein, die nach bilateraler vestibulärer Schädigung beschrieben wurden. Bei Ratten wurde eine verminderte Länge hippocampaler basaler Dendriten als Merkmal einer gestörten hippocampalen Plastizität beschrieben (Balabhadrapatruni et al., 2016). Brandt et al. (2005) konnten eine Korrelation hippocampaler Atrophie (von bis zu 17%) mit dem Ausmaß der räumlichen Orientierungsstörung bei bilateraler Vestibulopathie darstellen.

Um Erkenntnisse über die nach BL ablaufende Alteration der hippocampalen Zellproliferation zu gewinnen, ist der Einsatz von Medikamenten möglich, durch die die Zellproliferation beeinflusst werden kann. Die Option, positiven Einfluss auf Kompensationsprozesse bei bilateraler Vestibulopathie zu nehmen, könnte mittels Antidepressiva erfolgen, die nach Malberg et al. (2000) durch dauerhafte Administration eine erhöhte Neuroneogenese im Gyrus dentatus adulter Ratten hervorrufen können. Sie haben ebenso den Effekt, das Überleben neugeborener Neuronen zu verlängern, was aus funktioneller Sicht einen noch vielversprechenderen Ansatz darstellt (Sahay & Hen, 2007). Der positive Einfluss von Physiotherapie bei vestibulären Störungen ist bereits bekannt. Van Praag et al. (1999) konnten eine verdoppelte Neuroneogeneserate im Gyrus dentatus von Mäusen durch ein erhöhtes Bewegungsangebot (Rennen) erzielen.

2.2. Erhöhte Zellproliferation in vestibulären Kerngebieten

Die vestibulären Kerne sind die zentrale Schaltstelle der Gleichgewichtsbahn und eng mit Thalamus und Cerebellum verbunden. Es bestehen zahlreiche gekreuzte und ungekreuzte Projektionen (Lopez & Blanke, 2011). In den vestibulären Kernen wurde in der aktuellen Studie histologisch und durch das [^{18}F]FLT- μPET nach BL eine vermehrte Zellproliferation festgestellt. Diese erreichte 3d post OP ein frühes Maximum. Ein zweiter verzögerter Peak war in Woche 9 post OP vorhanden. Im μPET wurde das Maximum des Signals medial im pontomedullären Tegmentum detektiert. Eine Erklärung für diesen Befund könnten migrierende neuronale Stammzellen sein, die von der Mittellinie zu den Bereichen der vestibulären Kerne auswandern. In guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen der aktuellen Studie, stellten Zheng et al. (2010) nach bilateraler vestibulärer Deafferentierung eine erhöhte Zellproliferation und Neuroneogenese mit Maximum 48h post OP fest. Auch nach unilateralem vestibulären Schaden an Katzen wurde eine erhöhte Zellproliferation mit Maximum 3d post OP beobachtet (Tighilet et al., 2007). Es wurde die Hypothese formuliert, dass eine frühe reaktive Neuroneogenese im vestibulären Kern funktionell zur Kompensation der posturalen Asymmetrie beiträgt und durch partielle Differenzierung in GABAerge Neuronen zu einer strukturellen Neuorganisation in den vestibulären Kernen führt (Tighilet & Chabbert, 2019). Für diese Annahme spricht, dass bei einer Blockade der Zellproliferation mittels eines Zytostatikums die vestibuläre Kompensation wesentlich langsamer und unvollständig ablief (Dutheil et al., 2009). Neurale Stammzellen übten auch bei Rueger et al. (2010) einen positiven Einfluss auf Regenerationsprozesse aus, allerdings nicht durch den Ersatz verlorener Zellen, sondern durch neuroprotektive und trophische Eigenschaften, durch Reduzierung von Neuroinflammation und Induktion von Umbaumaßnahmen. Korrelationsanalysen ergaben in der aktuellen Studie keinen eindeutigen Hinweis auf eine funktionell relevante Verbesserung von Verhaltensparametern im T-Maze durch die frühe Zellproliferation im vestibulären Kern. Dies könnte auch darin begründet sein, dass im Modell der bilateralen Labyrinthektomie – anders als bei unilateralem Schaden – die vestibuläre Kompensation nur unvollständig möglich ist. Die Ratten in der aktuellen Studie zeigten einen zweiten Signalanstieg in Woche 9 post OP. Dieser wurde bislang in anderen Arbeiten nicht beschrieben, wobei die Beobachtungszeiträume sich zwischen den Studien unterschieden. In den Korrelationsanalysen zeigten sich Hinweise auf eine schlechtere Orientierungsleistung im T-Maze bei erhöhter Zellproliferation in Woche 9 post OP. Dieser Zusammenhang kann folgendermaßen erklärt werden. Eine inkomplette symptomatische Kompensation nach zwei Monaten könnte einen erneuten Zellanstieg im vestibulären Kern auslösen. Alternativ könnte die erneute Zellproliferation aber auch

einen maladaptiven Vorgang darstellen, der zur fehlerhaften Reorganisation residueller vestibulärer Projektionen führt. In einem Modell mit kortikalen Verletzungen wurde verletzungsnah eine erhöhte Differenzierung von Astrozyten dokumentiert, die astroglisches Narbengewebe bildeten (Kernie et al., 2001). Auch diese Möglichkeit des maladaptiven strukturellen Umbaus bleibt zu bedenken, wenn auch kein struktureller cerebraler Schaden in dieser Studie gesetzt wurde.

Als Nebentbefund wurde im μ PET auch eine proliferative Aktivität im Bereich der Innenohre festgestellt. Diese zeigte ein frühes Maximum in Woche 1 post OP und eine graduelle Abnahme im Zeitverlauf. Da keine histologische Untersuchung der Innenohre vorgenommen wurde, kann über die zugrunde liegenden Mechanismen keine Aussage getroffen werden. Bei Vignaux et al. (2012) wurde nach chemischer Labyrinthektomie die komplette Restrukturierung von einem sensorischen in ein nicht-sensorisches einschichtiges Epithel nachgewiesen. Da dieser Prozess zunächst mit einem relativen Zellverlust einhergeht, lässt sich der frühe Signalanstieg im μ PET nicht hinreichend durch diese Umbauvorgänge im Innenohrepithel erklären. Wahrscheinlicher ist eine durch die Labyrinthektomie ausgelöste inflammatorische Reaktion im Innenohr, die aufgrund einer verstärkten Durchblutung und Einwanderung von Entzündungszellen mittels [^{18}F]FLT visualisiert werden kann.

2.3. Methodische Bewertung des [^{18}F]FLT- μ PET zur Darstellung der Zellproliferation in vestibulären Modellen

Anhand der Daten der aktuellen Studie konnte gezeigt werden, dass der Radiotracer [^{18}F]FLT geeignet ist, um differenzielle Modulationen der Zellproliferation in verschiedenen neurogenen Nischen und im Zeitverlauf nach vestibulärer Schädigung darzustellen. In Korrelationsanalysen mit histologischen Auswertungen des Proliferationsmarkers BrdU konnte sowohl für Signalzunahmen als auch -abnahmen eine zufriedenstellende Übereinstimmung erzielt werden. Für vestibuläre Tiermodelle sind daher prinzipiell beide Methoden zur Analyse und Quantifizierung dynamischer neurogener Proliferationsprozesse geeignet. Die spezifischen Vorteile des [^{18}F]FLT- μ PETs liegen in der Möglichkeit, die Zellproliferation in-vivo, longitudinal und in Korrelation zum Verhalten zu untersuchen. Durch die Korrelation mit Verhaltensparametern können Rückschlüsse auf die klinische Relevanz der Ergebnisse gezogen werden. Nachteile sind die beschränkte räumliche Auflösung und die unzureichende Differenzierung proliferierender Zelltypen. Weiterhin ist auch die geringe Signalstärke eine große Herausforderung und mögliche Fehlerquelle. Die Stärke der Zellproliferation unterscheidet sich weiterhin zwischen den neurogenen Nischen. In der aktuellen Studie waren sie in der SVZ etwa zehnfach höher als im DG oder VN. Dementsprechend

ergaben sich im [^{18}F]FLT- μPET unterschiedliche Darstellungsschwellen für jede neurogene Nische. Besonders im DG war eine Visualisierung der Effekte nach BL schwierig. Das könnte auch daran liegen, dass in μPET -Analysen aus methodischen Gründen Signalabnahmen schwieriger darzustellen sind als Signalzunahmen (wie im VN). Ein weiterer Einflussfaktor ist die Schwierigkeit, den DG aufgrund seiner komplexen anatomischen Konfiguration in einer VOI abzubilden. Die Annäherung durch eine zirkuläre VOI führt zu einer Miterfassung extrahippocampaler Strukturen, was die Auswertung erschwert. Im Gegensatz dazu können die VN wesentlich besser durch eine zirkuläre VOI abgebildet werden. Die Reproduzierbarkeit der Studienergebnisse ist mit großer Wahrscheinlichkeit beeinflussbar von der Routine und der Bearbeitungsweise der analysierenden Personen, da die Abläufe zur Auswertung der μPET -Daten nicht automatisiert durchgeführt werden konnten. Mögliche weitere systematische Fehlerquellen für die Ergebnisse der [^{18}F]FLT-Analysen könnten die Injektionen von Probenecid oder die wiederholte Durchführung von Narkosen sein. Es wird vermutet, dass Probenecid einen neuroprotektiven Effekt durch erhöhten Membrantransport von protektiven Bestandteilen oder durch gehemmten Membrantransport toxischer Komponenten ausübt (Vamos et al., 2009). Im direkten Vergleich der μPET -Analysen mit der parallelen histologischen Auswertung konnten jedoch keine Einflüsse dieser Effektoren festgestellt werden.

Zusammenfassend stellt das [^{18}F]FLT- μPET eine gute Möglichkeit dar, Zellproliferation bei vestibulären Erkrankungen abzubilden. Limitierungen liegen in der geringeren Auflösung verglichen mit der Histologie, sodass geringfügige Veränderungen der Zellproliferation schwerer darzustellen sind. Höhere Tierzahlen könnten eventuell genauere Ergebnisse bieten. Die anatomisch korrekte und einfachere Lokalisation der Untersuchungsregionen könnte auch durch computertomographische Überlagerung erreicht werden. Die Histochemie erweist sich durch die Möglichkeit zur präzisen anatomischen Lokalisation als zuverlässigste Methode der Proliferationsanalyse. Trotzdem können vor allem unter dem Gesichtspunkt einer Translation zu Patienten mit vestibulären Erkrankungen durch das [^{18}F]FLT- μPET wertvolle Erkenntnisse gewonnen werden, da eine in-vivo-Darstellung der cerebralen Zellproliferation möglich ist. Ein besonderer Vorteil ergibt sich aus der Tatsache, dass der Tracer [^{18}F]FLT für andere Indikationen bereits beim Menschen zugelassen ist. Auch für Therapiestudien zur Modulation der Zellproliferation ist die Möglichkeit zur in-vivo-Untersuchung mittels [^{18}F]FLT-PET besonders vielversprechend.

2.4. Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen und andere Tierarten

Es bleibt umstritten, ob die Ergebnisse aus Experimenten mit Nagetieren auf den Menschen übertragen werden können. Spalding et al. (2013) stellten große Unterschiede zwischen dem lissencephalen Gehirn von Nagetieren und dem gyrencephalen Gehirn des Menschen in Bezug auf Differenzierungs- und Maturationszeiten von proliferierenden Zellen fest. Canine Versuchstiere seien besser geeignet, um die Ergebnisse von cerebralen Untersuchungen auf den Menschen zu übertragen. Es ist davon auszugehen, dass grundlegende Effekte im Nagerhirn bestätigt werden können, die Quantifizierung in gyrencephalen Tiermodellen aber besser korrespondiert.

In einer aktuellen Diskussion der humanen Studien mit fehlenden Hinweisen auf Neuroneogenese (Sorrells et al., 2018), beziehungsweise dem Beweis für eine persistierende Neuroneogenese bis in die achte Lebensdekade des Menschen (Boldrini et al., 2018), wurden technische Limitationen moniert, die zu einem drastischem Signalverlust proliferierender Zellen in post mortem Gewebsanalysen führen könnten (Kempermann et al., 2018; Lucassen et al., 2019). Die Richtung zukünftiger Forschung sollte sich an quantitativen Analysen orientieren, die in Relation zu anderen Plastizitätseigenschaften und zum Verhalten in gesunden oder erkrankten Zuständen gesetzt werden. Dabei rücken auch bildgebende in-vivo Verfahren, wie das [^{18}F]FLT-PET, die zur Darstellung von cerebraler Zellproliferation geeignet sind, in den Fokus. Methodische Beeinträchtigungen, die vor allem durch unterschiedliche histologische Bearbeitungen entstehen, können dabei ausgeschlossen werden. Die Ungewissheit der nicht bestimmbaren Phänotypen der radioaktiv markierten Zellen bleibt jedoch bestehen. Methodisch sind potentielle Speziesunterschiede zwischen Ratten, anderen Tierarten und dem Menschen zu bedenken. Als translationaler Ansatz könnten weitere speziesübergreifende Studien mit dem Tracer [^{18}F]FLT einen wertvollen Erkenntnisgewinn zu cerebraler Zellproliferation in Abhängigkeit modulierender Faktoren wie einer vestibulären Deafferentierung beitragen.

3. Mikrogliaaktivierung nach vestibulärem Schaden

Die μ PET-Untersuchung mit dem Radiotracer $[^{18}\text{F}]\text{GE180}$ konnte Mikrogliaaktivierungen im Rattenhirn nach einem bilateralen vestibulären Schaden darstellen. Die Methode wurde bereits im unilateralen Schwindelmodell histologisch validiert (Zwergal et al., 2017). Die Regionen SVZ, DG und VN wurden entsprechend der $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ -Analysen untersucht. Eine Signalzunahme ließ sich dabei in allen Strukturen abbilden. Bisher ist sehr wenig zur Bedeutung der Mikrogliaaktivierung in Verbindung mit bilateralen vestibulären Erkrankungen bekannt. Die reaktive Gliaaktivierung ist generell direkt mit dem Ausmaß eines cerebralen Schadens verbunden (Raivich et al., 1999). Mikroglia werden sofort nach einer Störung ihrer Umgebung aktiv und ihre Reaktion basiert auf Ausmaß und Chronizität der Störung. Einer allgemeinen Hypothese folgend könnte eine erhöhte Mikrogliaaktivierung funktionell relevante Regenerationsprozesse in zentralen vestibulären Netzwerken anstoßen (Tighilet et al., 2006). Auch aktivierte Astrozyten exprimieren TSPO und könnten potentiell bei dieser Analyse miteingeschlossen werden. Ihnen wird ein neuroprotektiver und neurotrophischer Effekt durch eine erhöhte Neurosteroidsynthese bei cerebralen Schäden zugeschrieben. Sie werden später aktiv als Mikrogliazellen, scheinen aber einen längeren Wirkungszeitraum zu haben (Chen & Guilarte, 2008). In einer Studie wurde die TSPO-Expression bei verschiedenen neurologischen Erkrankungen quantifiziert. Sie stimmte konsistent mit der Anwesenheit von aktivierten Mikrogliazellen überein und wird in dieser Studie folglich interpretiert (Kannan et al., 2009).

3.1. Erhöhte Mikrogliaaktivierung in hippocampalen Strukturen

Ein Signalanstieg des Tracers $[^{18}\text{F}]\text{GE180}$ wurde in bilateralen hippocampalen Strukturen detektiert. In der SVZ korrelierten der $[^{18}\text{F}]\text{GE180}$ -Uptake und die Geschwindigkeit sowie das Bewegungsverhalten im T-Maze positiv. Dies könnte so interpretiert werden, dass die persistierende Störung der räumlichen Orientierung zu einer reaktiv vermehrten Mikrogliaaktivierung im Hippocampus und der SVZ führt, um eine vermehrte Plastizitätsreserve durch Veränderung der Neurotransmission oder synaptischen Reorganisation zu schaffen. Inwieweit dies zu einer partiellen funktionellen Regeneration hippocampaler Funktionen beiträgt, bleibt innerhalb des Beobachtungszeitraums unklar, denn es konnte keine relevante Verbesserung der räumlichen Orientierungsfähigkeit nach BL nachgewiesen werden. Eventuell könnten mittels weiterer statistischer Analysen zeitlich verzögerte Effekte der TSPO-Expression auf das Verhalten entdeckt werden. Da sich methodisch die identische Problematik der anatomischen Lokalisation hippocampaler Strukturen zu den $[^{18}\text{F}]\text{FLT}$ -Analysen ergab,

ist die Aussagekraft für diese Struktur grundsätzlich kritisch zu überdenken.

3.2. Erhöhte Mikrogliaaktivierung in vestibulären Kerngebieten

In den vestibulären Kernen zeigte sich eine bilaterale Mikrogliaaktivierung nach BL, die sich über den gesamten Untersuchungszeitraum nachweisen ließ. Die reaktive Neuroinflammation konnte in dieser Studie im Vergleich zu früheren Studien an unilateral labyrinthektomierten Ratten (dort Maximum in Woche 3 post OP) (Zwergal et al., 2017) über einen wesentlich längeren Zeitraum dargestellt werden. Dies könnte eine persistierende Funktionsbeeinträchtigung oder noch nicht beendete Reparaturversuche implizieren. Lacor et al. (1999) beobachteten eine persistent erhöhte TSPO-Expression an beschädigten Nervenstümpfen. Das hier aufgezeichnete Signal nach BL in den VN könnte somit potentiell eine bleibende nervale Schädigung anzeigen. Passend zu dieser Hypothese ergab sich eine positive Korrelation des [^{18}F]GE180-Uptakes mit der Geschwindigkeit und eine negative Korrelation mit der Erfolgsquote im T-Maze in den Wochen 2 bis 3 post OP. Eine erhöhte Mikrogliaaktivierung in den vestibulären Kerngebieten scheint also mit einer stärkeren funktionellen Beeinträchtigung zentraler vestibulärer Projektionen verbunden zu sein. In diesem Szenario könnte das erhöhte Signal entzündliche Umbauprozesse des Nervengewebes darstellen, die zu einer persistierenden Beeinträchtigung der vestibulären Bahnen führen. Auch Astrozyten könnten akkumulieren, sich zu Sklerosen verhärten und somit die Funktion der vestibulären Kerngebiete durch Narbenbildung dauerhaft beeinträchtigen (Zanotti-Fregonara et al., 2014). Ob und inwieweit die Mikrogliaaktivierung in den vestibulären Kerngebieten auch positiv zur Kompensation nach BL beiträgt ist unklar. Im Modell der unilateralen Labyrinthektomie wurde ein positiver Effekt einer Mikrogliaaktivierung im ipsilateralen vestibulären Kern auf die vestibuläre Kompensation beschrieben (Zwergal et al., 2017). Die funktionelle Regeneration nach BL dauert aber wesentlich länger und verläuft inkomplett, sodass die potentiell vorteilhaften Effekte einer Mikrogliaaktivierung in den VN auch außerhalb des Beobachtungszeitraums liegen könnten.

4. Korrelation von cerebraler Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung nach BL

Bei der vestibulären Kompensation eines unilateralen Innenohrschadens werden die Prozesse der cerebralen Zellteilung und Mikrogliaaktivierung als reaktive aufeinanderfolgende Mechanismen im deafferentierten vestibulären Kern beschrieben (Tighilet & Chabbert, 2019). In hippocampalen Strukturen sind neuronale Zellteilung und -differenzierung sowie Mikrogliaaktivierung voneinander abhängige Vorgänge (Ekdahl et al., 2009). In der aktuellen Studie waren der [^{18}F]FLT- und [^{18}F]GE180-Uptake leicht positiv korreliert. Bei einer wochenweisen Aufteilung ergaben sich vor allem an späteren Messzeitpunkten zum Teil stark positive Korrelationen. Es könnte also angenommen werden, dass das Ausmaß der Mikrogliaaktivierung die Zellproliferation beeinflusst. Allerdings deutet vor allem im DG und SVZ der relative Abfall der Zellproliferation nach BL bei gleichzeitigem Anstieg der Mikrogliaaktivierung darauf hin, dass diese Prozesse nicht vollständig gekoppelt sind. Dafür sprechen auch die differentielle Korrelation zu den Verhaltensparametern im T-Maze: während für die Mikrogliaaktivierung signifikante Korrelationen an frühen Zeitpunkten im Hippocampus gefunden wurden, waren für die Zellproliferation signifikante Zusammenhänge im Hippocampus an frühen und im VN an späteren Zeitpunkten nachweisbar. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass die vestibuläre Kompensation aus vielen Mechanismen besteht, welche zwar verbunden sind, jedoch mit unterschiedlicher Zeitdynamik in den verschiedenen Hirnstrukturen ablaufen. Dies kann in der aktuellen Studie gut an den unterschiedlichen Signalstärke- und Zeiteffekten von [^{18}F]FLT und [^{18}F]GE180 in verschiedenen vestibulären Netzwerkstrukturen (VN und Hippocampus) nachgewiesen werden. Es muss von einer komplexen Interaktion der Mikrogliaaktivierung und Zellproliferation nach bilateraler vestibulärer Schädigung ausgegangen werden, die nicht auf einen linearen Zusammenhang reduziert werden kann. Zusammenfassend bestätigen die gesammelten Daten eine differenzierte Modulation der Mikrogliaaktivierung und Zellproliferation nach bilateraler vestibulärer Schädigung. Diese betrifft bekannte Schaltstellen des zentralen vestibulären Netzwerks. Korrelationen mit klinischen Verhaltensmarkern sprechen für eine funktionelle Relevanz dieser Prozesse, die in weiteren Forschungsarbeiten nach vestibulären Läsionen eingehender untersucht werden müssen.

5. Methodik der chemischen Labyrinthektomie

Das Modell der bilateralen Vestibulopathie durch chemische Labyrinthektomie an Ratten war in dieser Studie erfolgreich. Es ist als Modell der peripheren vestibulären Schädigung etabliert und sicher. Durch die in Kapitel III.2.2.2 genannten Abbruchkriterien, kann ein hohes Maß an Standardisierung erreicht werden. Der Phänotyp zur Simulation der bilateralen Vestibulopathie wurde an allen Ratten erfolgreich reproduziert. Die Effekte auf das Allgemeinbefinden der Tiere sowie ihr Verhalten waren deutlich. Eine auditive Schädigung, begleitend zu dem vestibulären Schaden, muss aufgrund pathophysiologischer Erwägungen und klinischer Beobachtungen angenommen werden. Sie hat laut Hill und Best (1981) sowie Rossier et al. (2000) jedoch keinen essentiellen Einfluss auf die vestibuläre Kompensation oder die Funktion hippocampaler place cells. In dieser Studie konnten keine differenzierten Messungen des Ausmaßes des auditiven Schadens durchgeführt werden. Limitationen der chemischen Labyrinthektomie liegen im Ausmaß des vestibulären Schadens, der im Gegensatz zu einer vestibulären Neurektomie inkomplett ist. Erhöhte cerebrale Zellproliferation wurde bisher nicht bei einer peripheren Schädigung des vestibulären Organs beobachtet, sondern nur bei der Methode der chirurgischen Labyrinthektomie oder Neurektomie (Lacour & Bernard-Demanze, 2015). Die chemische Labyrinthektomie erlaubte hier eine Untersuchung von Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung ohne verfälschende Einflüsse eines strukturellen cerebralen Schadens (Zwergal et al., 2017).

VI. ZUSAMMENFASSUNG

Cerebrale Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung nach bilateraler Innenohrschädigung - vergleichende μ PET-Verhaltensstudie im Rattenmodell

Die cerebrale Zellproliferation ist Grundvoraussetzung für Plastizitätsmechanismen, die über das gesamte Leben im Gehirn ablaufen. Mikrogliazellen wandeln sich bei Verletzungen des peripheren und zentralen Nervensystems in ihre aktivierte Form um und modulieren durch neuroinflammatorische Mediatoren die lokale neuronale Plastizität. Cerebrale Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung sind Prozesse, die in die funktionelle Regeneration und strukturelle Reorganisation nach neuronaler Schädigung eingebunden sind und daher auch nach Läsionen vestibulärer Afferenzen im Rahmen der vestibulären Kompensation eine bedeutende Rolle spielen. Vestibuläre Kompensation bezeichnet eine dynamische Kaskade verschiedener synergistischer Plastizitätsmechanismen, die nach Innenohrschädigung zu einem Symptomausgleich beitragen. Die vestibuläre Kompensation kann bei unilateralen vestibulären Läsionen zu einer überwiegenden Normalisierung statischer vestibulärer Funktionen führen, während bei bilateraler Vestibulopathie nur eine partielle Regeneration möglich ist. Die bilaterale Vestibulopathie ist die häufigste chronische Schwindelerkrankung des älteren Menschen, der meist ein Verlust des vestibulären Sinnesepithels zugrunde liegt. Das Vestibularsyndrom ist auch in der Veterinärmedizin einer der häufigsten neurologischen Vorstellungsgründe.

Patienten mit einer bilateralen Vestibulopathie leiden unter Schwankschwindel mit Gang- und Standunsicherheit, vor allem auf unebenem Untergrund oder bei Dunkelheit, Oszillopsien und einer gestörten räumlichen Orientierung. Die Lebensqualität ist stark eingeschränkt. Beim Menschen beruht die Therapie derzeit ausschließlich auf einem multimodalen physikalischen Gleichgewichtstraining. Bei Tieren lässt sich dies nur schwer umsetzen. Die Therapie erfolgt symptomatisch mit Antiemetika und Sedativa bei Bedarf.

Die vorliegende Doktorarbeit untersuchte die Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung im Rattenmodell der bilateralen chemischen Labyrinthektomie (BL) mittels serieller Verhaltenstestung, [^{18}F]FLT (Zellproliferation)- und [^{18}F]GE180 (Mikrogliaaktivierung)- μ PET-Scans sowie immunhistochemischer Validierung. Ziel dieser Untersuchungen war die Verbesserung des Verständnisses plastischer und regenerativer Prozesse in zentralen vestibulären Netzwerken nach BL sowie die Definition neuer

pharmakologischer und physikalischer Therapieansätze bei bilateraler Vestibulopathie.

Durch Verhaltensuntersuchungen im T-Maze konnten persistierende Beeinträchtigungen der räumlichen Orientierung und des Lokomotionsverhaltens (Hyperlokomotion, erhöhtes Bewegungsverhalten) nach BL im Vergleich zu Kontrollgruppen nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse weisen auf eine chronische Beeinträchtigung hippocampaler Funktionen durch den Verlust vestibulärer Projektionen hin, die in räumliche Orientierung und räumliches Lernen involviert sind (z.B. head direction cells und place cells). Die Zellproliferation in der subventrikulären Zone (SVZ) und im Gyrus dentatus (DG) war im [^{18}F]FLT- μPET über den gesamten Untersuchungszeitraum nach BL von neun Wochen reduziert, während die Zellproliferation in den vestibulären Kerngebieten (VN) in Woche 1 und 9 post OP erhöht war. Eine verminderte hippocampale Zellproliferation korrelierte mit einer reduzierten Orientierungsleistung. Die frühe Zellproliferation in den VN war nicht mit einer Veränderung von Verhaltensparametern verbunden. Die verzögerte Zellproliferation korrelierte tendenziell mit einer schlechteren Orientierungsfunktion im T-Maze. Die Ergebnisse der [^{18}F]FLT- μPET -Analysen konnten durch immunhistochemische Auswertungen bestätigt werden. Die Mikrogliaaktivierung war in VN, SVZ und DG über den gesamten Beobachtungszeitraum erhöht, was als Hinweis auf eine persistierende funktionelle Beeinträchtigung vestibulärer Afferenzen oder einen unvollständigen strukturellen Kompensationsprozess interpretiert werden kann. Die Korrelationsanalysen zwischen [^{18}F]GE180-Uptake und Bewegungsverhalten konnten keinen positiven Einfluss der Mikrogliaaktivierung auf den Krankheitsverlauf bestätigen. Das Ausmaß der Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung korrelierte über den gesamten Untersuchungszeitraum positiv. Dies weist auf eine teilweise Verknüpfung dieser zwei Mechanismen nach BL hin, auch wenn beide Prozesse verschiedene Dynamiken pro neurogene Nische zeigten.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die Zellproliferation und Mikrogliaaktivierung nach bilateraler vestibulärer Schädigung in zentralen vestibulären Netzwerken differenziell reguliert werden und in-vivo mittels [^{18}F]FLT- und [^{18}F]GE180-PET dargestellt werden können. Weitere Untersuchungen sind nötig, um die funktionelle Relevanz dieser Prozesse für die vestibuläre Kompensation im Detail zu verstehen und die proliferierenden Zellen phänotypisch zu identifizieren. Translationale Untersuchungen durch kombinierte PET-Verhaltensstudien an Patienten mit vestibulären Krankheitsbildern erscheinen diesbezüglich aufgrund der aktuellen Studie als vielversprechend.

VII. SUMMARY

Cerebral cell proliferation and microglial activation following bilateral damage of the inner ear - comparative μ PET- and behavioural analyses in a rat model

Cerebral cell proliferation is an absolute precondition to provide evidence for neurogenesis, which is an important mechanism of plasticity in the adult brain. Microglial cells transform into an activated state after injuries of the peripheral and central nervous system and modulate neuronal plasticity through neuroinflammatory mediation. Cerebral cell proliferation and microglial activation are both processes that contribute to functional regeneration and structural reorganization following neuronal impairment. Therefore, they are implicated after lesions of the vestibular afferent pathways in the context of vestibular compensation as well. Vestibular compensation is based on a dynamic cascade of diverse synergistic plasticity mechanisms. It contributes to recovery of symptoms following inner ear lesions. Vestibular compensation can predominantly lead to a normalization of static vestibular function in unilateral vestibular lesions, whereas only partial regeneration is possible in bilateral vestibulopathy. Bilateral vestibulopathy is the most common chronic vestibular disorder in the elderly. It is frequently caused by a loss of vestibular sensory epithelium. In veterinary medicine the vestibular syndrome is one of the most common neurological presenting problems as well.

Patients affected by bilateral vestibulopathy suffer from dizziness while walking or standing, especially on uneven underground or in the dark. They experience oscillopsia and an impaired spatial orientation. The quality of life is profoundly reduced. Treatment for humans is exclusively based on multimodal physical balance training. In animals this is difficult to realize. They are treated symptomatically with antiemetics and sedatives if necessary.

The current doctoral thesis aimed at examining changes in cerebral cell proliferation and microglial activation in a rat model following bilateral chemical labyrinthectomy (BL). This was achieved by serial behavioural testing, [18 F]FLT (cell proliferation)- and [18 F]GE180 (microglial activation)- μ PET scans with histochemical validation. The aim of this study was to improve the understanding of plasticity and regenerative processes in central vestibular pathways following BL and to determine novel pharmacological and physical treatment options in bilateral vestibulopathy.

Behavioural testing in the T-maze revealed a persistent impairment of spatial orientation and locomotor performance following BL compared to a control group. These results point to a chronic disruption of hippocampal function and to the loss of vestibular projections involved in spatial orientation and learning behaviour (e.g. head direction cells and place cells). Cell proliferation in the subventricular zone (SVZ) and in the dentate gyrus (DG) was reduced in the [^{18}F]FLT- μPET over the whole testing period of 9 weeks following BL, while cell proliferation was elevated in the vestibular nuclei (VN) in week 1 and 9 post surgery. The decreased hippocampal cell proliferation correlated with the reduced orientation performance. Early cell proliferation in the VN did not relate to behavioural parameters. The delayed cell proliferation in the VN generally correlated with a worse orientation performance in the T-maze. The results of the [^{18}F]FLT- μPET -analyses were confirmed by histochemical evaluation. Microglial activation was elevated in the VN, SVZ and DG over the whole testing period. This was interpreted as a persistent functional impairment of vestibular afferent pathways or an incomplete structural compensation process. Correlation analyses of [^{18}F]GE180-uptake and movement did not confirm a positive influence of microglial activation on the course of disease. The extent of cell proliferation and microglial activation correlated positively over the testing period. This suggests a partial connection of the two mechanisms following BL, even though they displayed different dynamics per neurogenic niche.

In summarizing this study, cell proliferation and microglial activation in central vestibular pathways is present and differentially regulated following BL. These mechanisms were visualized in vivo by means of [^{18}F]FLT- and [^{18}F]GE180- μPET . Additional analyses are required to comprehend their specific functional relevance for vestibular compensation and to determine the phenotype of proliferating cells. Based on this study translational investigations with combined PET and behavioural testing in patients with vestibular disorders appear to be promising.

VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Adrion C, Fischer CS, Wagner J, Gürkov R, Mansmann U, Strupp M, Group BS. Efficacy and safety of betahistine treatment in patients with Meniere's disease: primary results of a long term, multicentre, double blind, randomised, placebo controlled, dose defining trial (BEMED trial). *BMJ* 2016; 352: h6816.

Agrawal Y, Carey JP, Della Santina CC, Schubert MC, Minor LB. Disorders of Balance and Vestibular Function in US Adults: Data From the National Health and Nutrition Examination Survey, 2001-2004. *Archives of Internal Medicine* 2009; 169: 938-44.

Aitken P, Benoit A, Zheng Y, Philoxene B, Le Gall A, Denise P, Besnard S, Smith PF. Hippocampal and Striatal M1-Muscarinic Acetylcholine Receptors Are Down-Regulated Following Bilateral Vestibular Loss in Rats. *Hippocampus* 2016; 26: 1509-14.

Aitken P, Zheng Y, Smith PF. Effects of bilateral vestibular deafferentation in rat on hippocampal theta response to somatosensory stimulation, acetylcholine release, and cholinergic neurons in the pedunculo pontine tegmental nucleus. *Brain Struct Funct* 2017a; 222: 3319-32.

Aitken P, Zheng Y, Smith PF. The modulation of hippocampal theta rhythm by the vestibular system. *J Neurophysiol* 2017b; 119: 548-62.

Altman J, Das GD. Autoradiographic and Histological Evidence of Postnatal Hippocampal Neurogenesis in Rats. *J Comp Neurol* 1965; 124: 319-35.

Angelaki DE, Cullen KE. Vestibular system: the many facets of a multimodal sense. *Annu Rev Neurosci* 2008; 31: 125-50.

Anniko M, Wersäll J. Experimentally (Atoxyl) Induced Ampullar Degeneration and Damage to the Maculae Utriculi. *Acta Oto-Laryngologica* 1977; 83: 429-40.

Araque A, Navarrete M. Glial cells in neuronal network function. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 2010; 365: 2375-81.

Araque A, Carmignoto G, Haydon PG, Oliet SH, Robitaille R, Volterra A. Gliotransmitters Travel in Time and Space. *Neuron* 2014; 81: 728-39.

Arnold W, Ganzer U (2011) Checkliste Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, 5 edn. Georg Thieme Verlag. 624

Axlund T. Otitis interna and vestibular disease. In: *Small Animal Ear Diseases: An Illustrated Guide*, 2 edn: Elsevier Saunders 2005: 339-48.

Baier B, Conrad J, Stephan T, Kirsch V, Vogt T, Wilting J, Müller-Forell W, Dieterich M. Vestibular thalamus: Two distinct graviceptive pathways. *Neurology* 2016; 86: 134-40.

Bailey DL, Humm J, A. T-P, van Aswegen A (2014) *Nuclear Medicine Physics: A Handbook for Teachers and Students*. IAEA

Balabhadrapatruni S, Zheng Y, Napper R, Smith PF. Basal dendritic length is reduced in the rat hippocampus following bilateral vestibular deafferentation. *Neurobiol Learn Mem* 2016; 131: 56-60.

- Baloh RW, Jacobson K, Honrubia V. Idiopathic bilateral vestibulopathy. *Neurology* 1989; 39: 272-5.
- Barkho BZ, Song H, Aimone JB, Smrt RD, Kuwabara T, Nakashima K, Gage FH, Zhao X. Identification of astrocyte-expressed factors that modulate neural stem/progenitor cell differentiation. *Stem cells and development* 2006; 15: 407-21.
- Bauer S, Patterson PH. The cell cycle-apoptosis connection revisited in the adult brain. *J Cell Biol* 2005; 171: 641-50.
- Bauser M, Lehmann L. Positronen-Emissions-Tomographie: Biochemie im Bild. *Chemie in unserer Zeit* 2012; 46: 80-99.
- Beck R, Günther L, Xiong G, Potschka H, Böning G, Bartenstein P, Brandt T, Jahn K, Dieterich M, Strupp M. The mixed blessing of treating symptoms in acute vestibular failure—evidence from a 4-aminopyridine experiment. *Experimental Neurology* 2014; 261: 638-45.
- Bekiari C, Grivas I, Tsingotjidou A, Papadopoulos GC. Adult neurogenesis and gliogenesis in the dorsal and ventral canine hippocampus. *Journal of Comparative Neurology* 2019; n/a
- Bellot-Saez A, Kekesi O, Morley JW, Buskila Y. Astrocytic modulation of neuronal excitability through K⁺ spatial buffering. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2017; 77: 87-97.
- Benarroch EE. Microglia: multiple roles in surveillance, circuit shaping, and response to injury. *Neurology* 2013; 81: 1079-88.
- Bergquist F, Ludwig M, Dutia MB. Role of the commissural inhibitory system in vestibular compensation in the rat. *J Physiol* 2008; 586: 4441-52.
- Besnard S, Machado M, Vignaux G, Boulouard M, Coquerel A, Bouet V, Freret T, Denise P, Lelong-Boulouard V. Influence of vestibular input on spatial and nonspatial memory and on hippocampal NMDA receptors. *Hippocampus* 2012; 22: 814-26.
- Biebl M, Cooper CM, Winkler J, Kuhn HG. Analysis of neurogenesis and programmed cell death reveals a self-renewing capacity in the adult rat brain. *Neuroscience letters* 2000; 291: 17-20.
- Blödw A, Bloching M, Hörmann K, Walther L. Rezeptorfunktion der Bogengänge. *HNO* 2012; 60: 249-62.
- Boenninghaus H-G, Lenarz T (2007) Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, 13 edn. Springer
- Boldrini M, Fulmore CA, Tartt AN, Simeon LR, Pavlova I, Poposka V, Rosoklija GB, Stankov A, Arango V, Dwork AJ, Hen R, Mann JJ. Human Hippocampal Neurogenesis Persists throughout Aging. *Cell Stem Cell* 2018; 22: 589-99.
- Bond AM, Ming G-I, Song H. Adult mammalian neural stem cells and neurogenesis: five decades later. *Cell Stem Cell* 2015; 17: 385-95.
- Bozzato V, Długaiczek J, Bumm K. Benigner paroxysmaler Lagerungsschwindel. *Journal für Ästhetische Chirurgie* 2013; 6: 126-8.
- Brandt T, Dieterich M, Strupp M (2004) Vertigo: Leitsymptom Schwindel. Springer

- Brandt T, Schautzer F, Hamilton DA, Brüning R, Markowitsch HJ, Kalla R, Darlington C, Smith P, Strupp M. Vestibular loss causes hippocampal atrophy and impaired spatial memory in humans. *Brain* 2005; 128: 2732-41.
- Brandt T, Huppert D, Hecht J, Karch C, Strupp M. Benign paroxysmal positioning vertigo: a long-term follow-up (6–17 years) of 125 patients. *Acta Oto-Laryngologica* 2006; 126: 160-3.
- Brandt T (2013) *Vertigo: its multisensory syndromes*. Springer
- Brandt T, Dieterich M. The dizzy patient: don't forget disorders of the central vestibular system. *Nat Rev Neurol* 2017; 13: 352.
- Brodal A. Anatomy of the Vestibular Nuclei and their Connections. In: *Handbook of Sensory Physiology*, 6 edn. Kornhuber HH, ed.: Springer 1974: 239-352.
- Burgess N, Maguire EA, O'Keefe J. The human hippocampus and spatial and episodic memory. *Neuron* 2002; 35: 625-41.
- Cameron H, Woolley C, McEwen B, Gould E. Differentiation of newly born neurons and glia in the dentate gyrus of the adult rat. *Neuroscience* 1993; 56: 337-44.
- Chang AK, Olshaker JS. Dizziness and Vertigo. In: *Rosen's Emergency Medicine: Concepts and Clinical Practice*, 8 edn: Elsevier Saunders 2013: 162-9.e1.
- Chen M-K, Guilarte TR. Translocator Protein 18kDA (TSPO): Molecular Sensor of Brain Injury & Repair. *Pharmacol Ther* 2008; 118: 1-17.
- Cherry SR, Dahlbom M (2006) PET: physics, instrumentation, and scanners. *PET*. 1-117
- Cherry SR, Sorenson JA, Phelps ME (2012) *Physics in Nuclear Medicine*, 4 edn. Saunders Elsevier
- Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends in Neurosciences* 2002; 25: 295-301.
- Curthoys IS, Halmagyi GM. Vestibular Compensation. In: *Vestibular Dysfunction and Its Therapy*. Büttner U, ed.: Karger Publishers 1998: 82-110.
- Curthoys IS. Vestibular compensation and substitution. *Curr Opin Neurol* 2000; 13: 27-30.
- Darlington CL, Smith PF. Molecular mechanisms of recovery from vestibular damage in mammals: recent advances. *Prog Neurobiol* 2000; 62: 313-25.
- De Lahunta A, Glass EN, Kent M (2014) *Veterinary Neuroanatomy and Clinical Neurology*, 4 edn. Saunders Elsevier
- Deacon RMJ, Rawlins JNP. T-maze alternation in the rodent. *Nat Protocols* 2006; 1: 7-12.
- Delank H-W, Gehlen W (2006) *Neurologie*, 11 edn. Georg Thieme Verlag
- Dewey CW, Da Costa RC (2016) *Practical Guide to Canine and Feline Neurology*, 3 edn. John Wiley & Sons

- Dieterich M, Bauermann T, Best C, Stoeter P, Schlindwein P. Evidence for cortical visual substitution of chronic bilateral vestibular failure (an fMRI study). *Brain* 2007; 130: 2108-16.
- Dieterich M, Brandt T. Functional brain imaging of peripheral and central vestibular disorders. *Brain* 2008; 131: 2538-52.
- Dlugaiczek J. Neuigkeiten aus der Grundlagenforschung. In: *Vertigo — Kontroverses und Bewährtes*. Iro H, Waldfahrer F, eds.: Springer 2011: 3-13.
- Du L, Zhang Y, Chen Y, Zhu J, Yang Y, Zhang H-L. Role of Microglia in Neurological Disorders and Their Potentials as a Therapeutic Target. *Molecular Neurobiology* 2017; 54: 7567-84.
- Duan X, Kang E, Liu CY, Ming G-I, Song H. Development of neural stem cell in the adult brain. *Current opinion in neurobiology* 2008; 18: 108-15.
- Dutheil S, Brezun J, Leonard J, Lacour M, Tighilet B. Neurogenesis and astrogenesis contribution to recovery of vestibular functions in the adult cat following unilateral vestibular neurectomy: cellular and behavioral evidence. *Neuroscience* 2009; 164: 1444-56.
- Dutheil S, Lacour M, Tighilet B. Neurogenic Potential of the Vestibular Nuclei and Behavioural Recovery Time Course in the Adult Cat Are Governed by the Nature of the Vestibular Damage. *PLoS One* 2011; 6: e22262.
- Dutia MB. Mechanisms of vestibular compensation: recent advances. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2010; 18: 420-4.
- Eilles E (2016) Darstellung und therapeutische Modulation der zerebralen Plastizität nach bilateraler audio-vestibulärer Schädigung im Rattenmodell: Eine vergleichende [^{18}F]FDG- μPET -Verhaltensuntersuchung. In: *Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin (Deutsches Schwindel- und Gleichgewichtszentrum)*. Ludwigs-Maximilians-Universität München, München
- Ekdahl C, Kokaia Z, Lindvall O. Brain inflammation and adult neurogenesis: The dual role of microglia. *Neuroscience* 2009; 158: 1021-9.
- Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 1998; 4: 1313-7.
- Fan Z, Calsolaro V, Atkinson RA, Femminella GD, Waldman A, Buckley C, Trigg W, Brooks DJ, Hinz R, Edison P. Flutriciclamide (^{18}F -GE180) PET: First-in-Human PET Study of Novel Third-Generation In Vivo Marker of Human Translocator Protein. *JNM* 2016; 57: 1753-9.
- Feil K, Böttcher N, Kremmyda O, Muth C, Teufel J, Zwergal A, Brandt T, Strupp M. Pharmacotherapy of Vestibular Disorders, Nystagmus and Cerebellar Disorders. *Fortschr Neurol Psychiatr* 2015; 83: 490-8.
- Fukasawa M, Okamoto K, Nakamura M, Mikami K, Shimada S, Tanaka Y, Nagai K, Arito M, Kurokawa MS, Masuko K, Suematsu N, Koizuka I, Kato T. Proteomic analysis of the rat cerebellar flocculus during vestibular compensation. *J Vestib Res* 2009; 19: 83-94.
- Gage FH. Mammalian Neural Stem Cells. *Science* 2000; 287: 1433-8.

- Ganong WF. Medical physiology. Rev Med Physiol 1999; 19
- Goddard M, Zheng Y, Darlington CL, Smith PF. Locomotor and exploratory behavior in the rat following bilateral vestibular deafferentation. Behav Neurosci 2008; 122: 448-59.
- Gotthelf LN (2017) Ohrerkrankungen der Kleintiere. Elsevier
- Gould E. How widespread is adult neurogenesis in mammals? Nat Rev Neurosci 2007; 8: 481.
- Gratzner HG. Monoclonal antibody to 5-bromo- and 5-iododeoxyuridine: a new reagent for detection of DNA replication. Science 1982; 218: 474-5.
- Guinand N, Boselie F, Guyot J-P, Kingma H. Quality of Life of Patients With Bilateral Vestibulopathy. Annals of Otolaryngology, Rhinology & Laryngology 2012; 121: 471-7.
- Günther L, Beck R, Xiong G, Potschka H, Jahn K, Bartenstein P, Brandt T, Dutia M, Dieterich M, Strupp M, la Fougère C, Zwergal A. N-Acetyl-L-Leucine Accelerates Vestibular Compensation after Unilateral Labyrinthectomy by Action in the Cerebellum and Thalamus. PLoS One 2015; 10: e0120891.
- Hamann K-F, Lannou J. Dynamic Characteristics of Vestibular Nuclear Neurons Responses to Vestibular and Optokinetic Stimulation during Vestibular Compensation in the Rat. Acta Oto-Laryngologica 1988; 105: 1-19.
- Hartmann K, Berg G, Schmid S (2011) Rule-Outs für die Kleintiermedizin, 2 edn. Schlütersche
- Harvey RG, Harari J, Delauche AJ (2003) Ohrkrankheiten bei Hund und Katze. Schattauer
- Hawkins Jr JE, Preston RE. Vestibular Ototoxicity. In: The Vestibular System. Naunton RF, ed.: Academic Press 1975: 321-49.
- Herdman SJ. Vestibular rehabilitation. Curr Opin Neurol 2013; 26: 96-101.
- Hermann R, Ionescu EC, Dumas O, Tringali S, Truy E, Tilikete C. Bilateral Vestibulopathy: Vestibular Function, Dynamic Visual Acuity and Functional Impact. Front Neurol 2018; 9: 555.
- Hill AJ, Best PJ. Effects of deafness and blindness on the spatial correlates of hippocampal unit activity in the rat. Experimental Neurology 1981; 74: 204-17.
- Hitier M, Besnard S, Smith PF. Vestibular pathways involved in cognition. Front Integr Neurosci 2014; 8: 59.
- Horii A, Takeda N, Mochizuki T, Okakura-Mochizuki K, Yamamoto Y, Yamatodani A. Effects of Vestibular Stimulation on Acetylcholine Release From Rat Hippocampus: An In Vivo Microdialysis Study. J Neurophysiol 1994; 72: 605-11.
- Hüfner K, Hamilton DA, Kalla R, Stephan T, Glasauer S, Ma J, Brüning R, Markowitsch HJ, Labudda K, Schichor C, Strupp M, Brandt T. Spatial memory and hippocampal volume in humans with unilateral vestibular deafferentation. Hippocampus 2007; 17: 471-85.

- Imai T, Takeda N, Ito M, Nakamae K, Sakae H, Fujioka H, Kubo T. Three-Dimensional Analysis of Benign Paroxysmal Positional Nystagmus in a Patient with Anterior Semicircular Canal Variant. *Otology & Neurotology* 2006; 27: 362-6.
- Iwasaki S, Fujimoto C, Egami N, Kinoshita M, Togo F, Yamamoto Y, Yamasoba T. Noisy vestibular stimulation increases gait speed in normals and in bilateral vestibulopathy. *Brain Stimulation* 2018; 11: 709-15.
- Jahn K, Zwergal A, Schniepp R. Zertifizierte Fortbildung (cme): Gangstörungen im Alter: Klassifikation, Diagnostik und Therapie aus neurologischer Sicht. *Deutsches Ärzteblatt* 2010; 107: 17.
- Kannan S, Balakrishnan B, Muzik O, Romero R, Chugani D. Positron emission tomography imaging of neuroinflammation. *Journal of child neurology* 2009; 24: 1190-9.
- Kaplan MS, Hinds JW. Neurogenesis in the Adult Rat: Electron Microscopic Analysis of Light Radioautographs. *Science* 1977; 197: 1092-4.
- Káradóttir RT, Kuo CT. Neuronal activity-dependent control of postnatal neurogenesis and gliogenesis. *Annu Rev Neurosci* 2018; 41: 139-61.
- Kee N, Sivalingam S, Boonstra R, Wojtowicz JM. The utility of Ki-67 and BrdU as proliferative markers of adult neurogenesis. *J Neuroscience Methods* 2002; 115: 97-105.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. Genetic influence on neurogenesis in the dentate gyrus of adult mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1997; 94: 10409-14.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. Experience-Induced Neurogenesis in the Senescent Dentate Gyrus. *J Neurosci* 1998; 18: 3206-12.
- Kempermann G, Gast D, Gage FH. Neuroplasticity in Old Age: Sustained Fivefold Induction of Hippocampal Neurogenesis by Long-term Environmental Enrichment. *Ann Neurol* 2002; 52: 135-43.
- Kempermann G, Gage FH, Aigner L, Song H, Curtis MA, Thuret S, Kuhn HG, Jessberger S, Frankland PW, Cameron HA, Gould E, Hen R, Abrous DN, Toni N, Schinder AF, Zhao X, Lucassen PJ, Frisén J. Human Adult Neurogenesis: Evidence and Remaining Questions. *Cell Stem Cell* 2018; 23: 25-30.
- Kent M, Platt SR, Schatzberg SJ. The neurology of balance: Function and dysfunction of the vestibular system in dogs and cats. *The Veterinary Journal* 2010; 185: 247-58.
- Kernie SG, Erwin TM, Parada LF. Brain remodeling due to neuronal and astrocytic proliferation after controlled cortical injury in mice. *Journal of Neuroscience Research* 2001; 66: 317-26.
- Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, Chen J, Fu G, Gindulyte A, Han L, He J, He S, Shoemaker BA, Wang J, Yu B, Zhang J, Bryant SH. PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic Acids Research* 2015; 44: D1202-D13.
- Kisely M, Tóth A, Emri M, Lengyel Z, Kálvin B, Horváth G, Trón L, Bogner B, Sziklai I. Verarbeitung vestibulärer Impulse im Zentralnervensystem: Untersuchung anhand der Positronen-Emissions-Tomographie. *HNO* 2001; 49: 347-54.

Kong X, Zhu Q, Vidal P, Watanabe K, Polsky B, Armstrong D, Ostrander M, Lang S, Muchmore E, Chou T. Comparisons of Anti-Human Immunodeficiency Virus Activities, Cellular Transport, and Plasma and Intracellular Pharmacokinetics of 3'-Fluoro-3'-Deoxythymidine and 3'-Azido-3'-Deoxythymidine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 1992; 36: 808-18.

Kraeling M. Proposed Treatment for Geriatric Vestibular Disease in Dogs. *Topics in Companion Animal Medicine* 2014; 29: 6-9.

Kuhlmann AC, Guilarte TR. Cellular and Subcellular Localization of Peripheral Benzodiazepine Receptors After Trimethyltin Neurotoxicity. *J Neurochem* 2000; 74: 1694-704.

Lacor P, Gandolfo P, Tonon M-C, Brault E, Dalibert I, Schumacher M, Benavides J, Ferzaz B. Regulation of the expression of peripheral benzodiazepine receptors and their endogenous ligands during rat sciatic nerve degeneration and regeneration: a role for PBR in neurosteroidogenesis. *Brain Research* 1999; 815: 70-80.

Lacour M, Bernard-Demanze L. Interaction between vestibular compensation mechanisms and vestibular rehabilitation therapy: 10 recommendations for optimal functional recovery. *Front Neurol* 2015; 5: 285.

Lacour M, Helmchen C, Vidal P-P. Vestibular compensation: the neuro-otologist's best friend. *J Neurol* 2016; 263: 54-64.

Leventhal C, Rafii S, Rafii D, Shahar A, Goldman SA. Endothelial Trophic Support of Neuronal Production and Recruitment from the Adult Mammalian Subependyma. *Molecular and Cellular Neuroscience* 1999; 13: 450-64.

Lim DA, Tramontin AD, Trevejo JM, Herrera DG, García-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Noggin Antagonizes BMP Signaling to Create a Niche for Adult Neurogenesis. *Neuron* 2000; 28: 713-26.

Lindner M, Gosewisch A, Eilles E, Branner C, Krämer A, Oos R, Wolf E, Ziegler S, Bartenstein P, Brandt T, Dieterich M, Zwergal A. *Ginkgo biloba* Extract EGb 761 Improves Vestibular Compensation and Modulates Cerebral Vestibular Networks in the Rat. *Front Neurol* 2019; 10: 147.

Liu X, Wang Q, Haydar TF, Bordey A. Nonsynaptic GABA signaling in postnatal subventricular zone controls proliferation of GFAP-expressing progenitors. *Nature Neuroscience* 2005; 8: 1179-87.

Lopez C, Blanke O. The thalamocortical vestibular system in animals and humans. *Brain Res Rev* 2011; 67: 119-46.

Lorenz MD, Coates J, Kent M (2011) *Handbook of Veterinary Neurology*, 5 edn. Elsevier Saunders

Lucassen PJ, Toni N, Kempermann G, Frisen J, Gage FH, Swaab DF. Limits to human neurogenesis—really? *Molecular Psychiatry* 2019;

Maingay MG, Sansom AJ, Kerr DR, Smith PF, Darlington CL. The effects of intra-vestibular nucleus administration of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) on recovery from peripheral vestibular damage in guinea pig. *NeuroReport* 2000; 11: 2429-32.

- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. Chronic Antidepressant Treatment Increases Neurogenesis in Adult Rat Hippocampus. *J Neurosci* 2000; 20: 9104-10.
- Mansfield PD. Ototoxicity in dogs and cats. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 1990; 12: 331-7.
- Marchand P, Ouadi A, Pellicoli M, Schuler J, Laquerriere P, Boisson F, Brasse D. Automated and efficient radiosynthesis of [^{18}F]FLT using a low amount of precursor. *Nuclear Medicine and Biology* 2016; 43: 520-7.
- Mattle H, Mumenthaler M (2011) *Kurzlehrbuch Neurologie*. Georg Thieme Verlag
- McNaughton BL, Chen LL, Markus EJ. "Dead Reckoning," Landmark Learning, and the Sense of Direction: A Neurophysiological and Computational Hypothesis. *J Cogn Neurosci* 1991; 3: 190-202.
- Merchant SR, Mortellaro C, White R (2001) *Clinical atlas of ear, nose and throat diseases in small animals*. Schlütersche
- Meyn R, Hewitt R, Humphrey R. Evaluation of S phase synchronization by analysis of DNA replication in 5-bromodeoxyuridine. *Experimental cell research* 1973; 82: 137-42.
- Miller PW, Long NJ, Vilar R, Gee AD. Synthese von ^{11}C -, ^{18}F -, ^{15}O -und ^{13}N -Radiotracer für die Positronenemissionstomographie. *Angewandte Chemie* 2008; 120: 9136-72.
- Mills CD, Bitler JL, Woolf CJ. Role of the peripheral benzodiazepine receptor in sensory neuron regeneration. *Molecular and Cellular Neuroscience* 2005; 30: 228-37.
- Ming G-I, Song H. Adult Neurogenesis in the Mammalian Brain: Significant Answers and Significant Questions. *Neuron* 2011; 70: 687-702.
- Mori RL, Cotter LA, Arendt HE, Olsheski CJ, Yates BJ. Effects of bilateral vestibular nucleus lesions on cardiovascular regulation in conscious cats. *J Appl Physiol* 2005; 98: 526-33.
- Morrens J, Van Den Broeck W, Kempermann G. Glial cells in adult neurogenesis. *Glia* 2012; 60: 159-74.
- Muller R. A Quarter of a Century of Place Cells. *Neuron* 1996; 17: 979-90.
- Nelson RW, Couto CG (2014) *Small Animal Internal Medicine*, 5 edn. Elsevier Mosby
- Neuhauser HK. Epidemiologie von Schwindelerkrankungen. *Nervenarzt* 2009; 80: 887-94.
- Obermann M. Chronischer Schwindel aus neurologischer Sicht. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 2013; 138: 269-74.
- Ossenkopp K-P, Prkacin A, Hargreaves EL. Sodium arsenite-induced vestibular dysfunction in rats: Effects on open-field behavior and spontaneous activity in the automated digiscan monitoring system. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1990; 36: 875-81.
- Ostertag H. Positronen-Emissions-Tomographie (PET): Ein diagnostisches Verfahren zur in vivo-Stoffwechseluntersuchung mit Positronenstrahlern. *Physikalische Blätter* 1992; 48: 77-83.

- Packard MG, McGaugh JL. Inactivation of Hippocampus or Caudate Nucleus with Lidocaine Differentially Affects Expression of Place and Response Learning. *Neurobiol Learn Mem* 1996; 65: 65-72.
- Papadopoulos V, Amri H, Boujrad N, Cascio C, Culty M, Garnier M, Hardwick M, Li H, Vidic B, Brown A, Reversa J, Bernassau J, Drieu K. Peripheral benzodiazepine receptor in cholesterol transport and steroidogenesis. *Steroids* 1997; 62: 21-8.
- Paxinos G, Watson C (2007) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 6 edn. Elsevier
- Platt SR, Olby NJ (2014) *BSAVA manual of canine and feline neurology*, 4 edn. British Small Animal Veterinary Association
- Podgoršak EB (2006) *Radiation Physics for Medical Physicists*. Springer
- Raivich G, Bohatschek M, Kloss CU, Werner A, Jones LL, Kreutzberg GW. Neuroglial activation repertoire in the injured brain: graded response, molecular mechanisms and cues to physiological function. *Brain research reviews* 1999; 30: 77-105.
- Rasey JS, Grierson JR, Wiens LW, Kolb PD, Schwartz JL. Validation of FLT Uptake as a Measure of Thymidine Kinase-1 Activity in A549 Carcinoma Cells. *JNM* 2002; 43: 1210-7.
- Richman CL, Dember WN, Kim P. Spontaneous Alternation Behavior in Animals: A Review. *Curr Psych Res Rev* 1986; 5: 358-91.
- Ris L, de Waele C, Serafin M, Vidal P-P, Godaux E. Neuronal Activity in the Ipsilateral Vestibular Nucleus Following Unilateral Labyrinthectomy in the Alert Guinea Pig. *J Neurophysiol* 1995; 74: 2087-99.
- Robbins TW, Everitt BJ. Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Curr Opin Neurobiol* 1996; 6: 228-36.
- Roschlau C, Hauber W. Effects of dorsal hippocampus catecholamine depletion on paired-associates learning and place learning in rats. *Behav Brain Res* 2017; 323: 124-32.
- Rossier J, Haerberli C, Schenk F. Auditory cues support place navigation in rats when associated with a visual cue. *Behav Brain Res* 2000; 117: 209-14.
- Rueger MA, Backes H, Walberer M, Neumaier B, Ullrich R, Simard M-L, Emig B, Fink GR, Hoehn M, Graf R, Schroeter M. Noninvasive Imaging of Endogenous Neural Stem Cell Mobilization *In Vivo* Using Positron Emission Tomography. *J Neurosci* 2010; 30: 6454-60.
- Rupprecht R, Papadopoulos V, Rammes G, Baghai TC, Fan J, Akula N, Groyer G, Adams D, Schumacher M. Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. *Nat Rev Drug Discov* 2010; 9: 971-88.
- Russell NA, Horii A, Liu P, Smith PF, Darlington CL, Bilkey DK (2000) Hippocampal place fields have decreased stability in rats with bilateral vestibular labyrinthectomies. In: *Soc Neurosci Abstr*
- Russell NA, Horii A, Smith PF, Darlington CL, Bilkey DK. Long-Term Effects of Permanent Vestibular Lesions on Hippocampal Spatial Firing. *J Neurosci* 2003; 23: 6490-8.

- Russell NA, Horii A, Smith PF, Darlington CL, Bilkey DK. Lesions of the Vestibular System Disrupt Hippocampal Theta Rhythm in the Rat. *J Neurophysiol* 2006; 96: 4-14.
- Sahay A, Hen R. Adult hippocampal neurogenesis in depression. *Nature Neuroscience* 2007; 10: 1110-5.
- Salomon F-V, Geyer H, Gille U (2015) *Anatomie für die Tiermedizin*, 3 edn. Enke Verlag
- Schaller B (2003) *Positronenemissions-Tomographie zur Darstellung der Pathophysiologie bei Erkrankungen des zentralen Nervensystemes*. Forum Médical Suisse. 545-8
- Schicha H, Schober O (2013) *Nuklearmedizin: Basiswissen und klinische Anwendung*, 7 edn. Schattauer
- Schniepp R, Wuehr M, Neuhaeuser M, Kamenova M, Dimitriadis K, Klopstock T, Strupp M, Brandt T, Jahn K. Locomotion speed determines gait variability in cerebellar ataxia and vestibular failure. *Movement Disorders* 2012; 27: 125-31.
- Schunk K, Averill JD. Peripheral vestibular syndrome in the dog: a review of 83 cases. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1983; 182: 1354-7.
- Schwartz JL, Tamura Y, Jordan R, Grierson JR, Krohn KA. Monitoring Tumor Cell Proliferation by Targeting DNA Synthetic Processes with Thymidine and Thymidine Analogs. *JNM* 2003; 44: 2027-32.
- Seri B, García-Verdugo JM, Collado-Morente L, McEwen BS, Alvarez-Buylla A. Cell types, lineage, and architecture of the germinal zone in the adult dentate gyrus. *Journal of Comparative Neurology* 2004; 478: 359-78.
- Shen J, Barnes CA, McNaughton BL, Skaggs WE, Weaver KL. The Effect of Aging on Experience-Dependent Plasticity of Hippocampal Place Cells. *J Neurosci* 1997; 17: 6769-82.
- Shields AF, Grierson JR, Dohmen BM, Machulla HJ, Stayanoff JC, Lawhorn-Crews JM, Obradovich JE, Muzik O, Mangner TJ. Imaging proliferation *in vivo* with [F-18]FLT and positron emission tomography. *Nat Med* 1998; 4: 1334-6.
- Sierra A, Encinas JM, Deudero JJ, Chancey JH, Enikolopov G, Overstreet-Wadiche LS, Tsirka SE, Maletic-Savatic M. Microglia Shape Adult Hippocampal Neurogenesis through Apoptosis-Coupled Phagocytosis. *Cell Stem Cell* 2010; 7: 483-95.
- Sloane PD, Coeytaux RR, Beck RS, Dallara J. Dizziness: State of the Science. *Ann Intern Med* 2001; 134: 823-32.
- Smith PF, Darlington CL. Neurochemical mechanisms of recovery from peripheral vestibular lesions (vestibular compensation). *Brain Res Rev* 1991; 16: 117-33.
- Smith PF, Zheng Y. Principal component analysis suggests subtle changes in glutamate receptor subunit expression in the rat hippocampus following bilateral vestibular deafferentation. *Neurosci Lett* 2013; 548: 265-8.

- Sorrells SF, Paredes MF, Cebrian-Silla A, Sandoval K, Qi D, Kelley KW, James D, Mayer S, Chang J, Auguste KI, Chang EF, Gutierrez AJ, Kriegstein AR, Mathern GW, Oldham MC, Huang EJ, Garcia-Verdugo JM, Yang Z, Alvarez-Buylla A. Human hippocampal neurogenesis drops sharply in children to undetectable levels in adults. *Nature* 2018; 555: 377-97.
- Spalding KL, Bergmann O, Alkass K, Bernard S, Salehpour M, Huttner HB, Boström E, Westerlund I, Vial C, Buchholz BA, Possnert G, Mash DC, Druid H, Frisén J. Dynamics of Hippocampal Neurogenesis in Adult Humans. *Cell* 2013; 153: 1219-27.
- Stackman RW, Taube JS. Firing Properties of Head Direction Cells in the Rat Anterior Thalamic Nucleus: Dependence on Vestibular Input. *J Neurosci* 1997; 17: 4349-58.
- Stackman RW, Clark AS, Taube JS. Hippocampal Spatial Representations Require Vestibular Input. *Hippocampus* 2002; 12: 291-303.
- Stackman RW, Herbert AM. Rats with lesions of the vestibular system require a visual landmark for spatial navigation. *Behav Brain Res* 2002; 128: 27-40.
- Steenbeck S (2007) Retrospektive Analyse prognostischer Faktoren beim Vestibularsyndrom des Hundes. Imu
- Stoll W, Most E, Tegenthoff M (2004) Schwindel und Gleichgewichtsstörungen, 4 edn. Georg Thieme Verlag
- Strupp M, Schautzer F, Hamilton DA, Brüning R, Markowitsch HJ, Kalla R, Darlington C, Smith P, Brandt T (2008) Chronische Bilaterale Vestibulopathie führt zu Störungen des räumlichen Gedächtnisses und einer beidseitigen Atrophie des Hippocampus. In: Der Gleichgewichtssinn. Ed Scherer H. Springer, Vienna. 103-7
- Strupp M, Dieterich M, Zwergal A, Brandt T. Diagnosestellung und Therapieoptionen bei Schwindelsyndromen. *Der Nervenarzt* 2015; 86: 1277-90.
- Strupp M, Kim JS, Murofushi T, Straumann D, Jen JC, Rosengren SM, Della Santina CC, Kingma H. Bilateral vestibulopathy: Diagnostic criteria Consensus document of the Classification Committee of the Bárány Society. *J Vestib Res* 2017; 27: 177-89.
- Strupp M, Mandalà M, Lopez-Escamez J. Peripheral vestibular disorders: an update. *Curr Opin Neurol* 2018; 31: 165-73.
- Tamura Y, Takahashi K, Takata K, Eguchi A, Yamato M, Kume S, Nakano M, Watanabe Y, Kataoka Y. Noninvasive Evaluation of Cellular Proliferative Activity in Brain Neurogenic Regions in Rats under Depression and Treatment by Enhanced [¹⁸F]FLT-PET Imaging. *J Neurosci* 2016; 36: 8123-31.
- Taube JS. Head direction cells and the neurophysiological basis for a sense of direction. *Prog Neurobiol* 1998; 55: 225-56.
- Thomas WB. Vestibular Dysfunction. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice* 2000; 30: 227-49.
- Tighilet B, Trottier S, Mourre C, Lacour M. Changes in the histaminergic system during vestibular compensation in the cat. *J Physiol* 2006; 573: 723-39.

- Tighilet B, Brezun JM, Duflo Sylvie G, Gaubert C, Lacour M. New neurons in the vestibular nuclei complex after unilateral vestibular neurectomy in the adult cat. *J Neurosci* 2007; 25: 47-58.
- Tighilet B, Mourre C, Lacour M. Plasticity of the histamine H₃ receptors after acute vestibular lesion in the adult cat. *Front Integr Neurosci* 2014; 7: 87.
- Tighilet B, Dutheil S, Siponen MI, Noreña AJ. Reactive Neurogenesis and Down-Regulation of the Potassium-Chloride Cotransporter KCC2 in the Cochlear Nuclei after Cochlear Deafferentation. *Front Pharm* 2016; 7: 281.
- Tighilet B, Chabbert C. Adult neurogenesis promotes balance recovery after vestibular loss. *Prog Neurobiol* 2019; 174: 28-35.
- Tighilet B, Bordiga P, Cassel R, Chabbert C. Peripheral vestibular plasticity vs central compensation: evidence and questions. *J Neurol* 2019; 266: 27-32.
- Tolman EC. Purpose and cognition: the determiners of animal learning. *Psychological Review* 1925; 32: 285-97.
- Torres AC, Vidal P-P, de Waele C. Evidence for a microglial reaction within the vestibular and cochlear nuclei following inner ear lesion in the rat. *Neuroscience* 1999; 92: 1475-90.
- Tronel S, Belnoue L, Grosjean N, Revest JM, Piazza PV, Koehl M, Abrous DN. Adult-born neurons are necessary for extended contextual discrimination. *Hippocampus* 2010; 22: 292-8.
- Uemura EE (2015) *Fundamentals of Canine Neuroanatomy and Neurophysiology*. John Wiley & Sons
- Vamos E, Voros K, Zadori D, Vecsei L, Klivenyi P. Neuroprotective effects of probenecid in a transgenic animal model of Huntington's disease. *J Neural Transm* 2009; 116: 1079-86.
- Van Praag H, Kempermann G, Gage FH. Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscience* 1999; 2: 266-70.
- Vandeveldel M, Fankhauser R, Jaggy A, Lang J (2001) *Veterinärmedizinische Neurologie*, 2 edn. Parey
- Venker-van Haagen AJ (2005) *Ear, Nose, Throat and Tracheobronchial Diseases in Dogs and Cats*. Schlütersche
- Vignaux G, Chabbert C, Gaboyard-Niay S, Travo C, Machado ML, Denise P, Comoz F, Hitier M, Landemore G, Philoxène B, Besnard S. Evaluation of the chemical model of vestibular lesions induced by arsanilate in rats. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 258: 61-71.
- Wadsworth H, Jones PA, Chau W-F, Durrant C, Fouladi N, Passmore J, O'Shea D, Wynn D, Morisson-Iveson V, Ewan A, Thaning M, Mantzilas D, Gausemel I, Khan I, Black A, Ivory M, Trigg W. [¹⁸F] GE-180: A novel fluorine-18 labelled PET tracer for imaging Translocator protein 18 kDa (TSPO). *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2012; 22: 1308-13.

- Wenk GL. Assessment of Spatial Memory Using the T Maze. *Curr Prot Neurosci* 1998; 8.5B.1-8.5B.7.
- Whishaw IQ, Gorny B. Path Integration Absent in Scent-Tracking Fimbria–Fornix Rats: Evidence for Hippocampal Involvement in “Sense of Direction” and “Sense of Distance” Using Self-Movement Cues. *J Neurosci* 1999; 19: 4662-73.
- Wienhard K, Wagner R, Heiss W-D (2013) PET: Grundlagen und Anwendungen der Positronen-Emissions-Tomographie. Springer
- Winner B, Cooper-Kuhn CM, Aigner R, Winkler J, Kuhn HG. Long-term survival and cell death of newly generated neurons in the adult rat olfactory bulb. *European Journal of Neuroscience* 2002; 16: 1681-9.
- Wu Y, Dissing-Olesen L, MacVicar BA, Stevens B. Microglia: Dynamic Mediators of Synapse Development and Plasticity. *Trends in Immunology* 2015; 36: 605-13.
- Zanotti-Fregonara P, Zhang Y, Jenko KJ, Gladding RL, Zoghbi SS, Fujita M, Sbardella G, Castellano S, Taliani S, Martini C, Innis RB, Da Settimo F, Pike VW. Synthesis and Evaluation of Translocator 18 kDa Protein (TSPO) Positron Emission Tomography (PET) Radioligands with Low Binding Sensitivity to Human Single Nucleotide Polymorphism rs6971. *ACS Chemical Neuroscience* 2014; 5: 963-71.
- Zenner HP. Gleichgewicht. In: *Neuro-und Sinnesphysiologie*: 2013: 312-27.
- Zhao C, Deng W, Gage FH. Mechanisms and Functional Implications of Adult Neurogenesis. *Cell* 2008; 132: 645-60.
- Zheng Y, Goddard M, Darlington CL, Smith PF. Bilateral Vestibular Deafferentation Impairs Performance in a Spatial Forced Alternation Task in Rats. *Hippocampus* 2007; 17: 253-6.
- Zheng Y, Balabhadrapatruni S, Masumura C, Munro O, Darlington CL, Smith PF. Bilateral vestibular deafferentation causes deficits in a 5-choice serial reaction time task in rats. *Behav Brain Res* 2009; 203: 113-7.
- Zheng Y, Masumura C, Chung P, Darlington CL, Smith PF. Cell proliferation and survival in the vestibular nucleus following bilateral vestibular deafferentation in the adult rat. *Neurosci Lett* 2010; 468: 85-8.
- Zheng Y, Balabhadrapatruni S, Baek J-h, Chung P, Gliddon C, Zhang M, Darlington C, Napper R, Strupp M, Brandt T, Smith P. The Effects of Bilateral Vestibular Loss on Hippocampal Volume, Neuronal Number, and Cell Proliferation in Rats. *Front Neurol* 2012; 3: 20.
- Zingler VC, Weintz E, Jahn K, Mike A, Huppert D, Rettinger N, Brandt T, Strupp M. Follow-up of vestibular function in bilateral vestibulopathy. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 2008; 79: 284-8.
- Zwergal A, Schniepp R. Vestibuläre Kompensation: Klinische und wissenschaftliche Aspekte. *Nervenheilkunde* 2010; 29: 648-53.
- Zwergal A, la Fougère C, Xiong G, Kugler G, Schlichtiger J, Brandt T, Strupp M, Schneider E, Jahn K. Wenn dem Gehirn der vestibuläre Kompass fehlt – reale Navigation bei bilateraler Vestibulopathie im PET. *Klinische Neurophysiologie* 2011; 42: P326.

Zwergal A, Schlichtiger J, Xiong G, Beck R, Günther L, Schniepp R, Schöberl F, Jahn K, Brandt T, Strupp M, Bartenstein P, Dieterich M, Dutia MB, la Fougère C. Sequential [¹⁸F]FDG μPET whole-brain imaging of central vestibular compensation: a model of deafferentation-induced brain plasticity. *Brain Struct Funct* 2016; 221: 159-70.

Zwergal A, Gunther L, Brendel M, Beck R, Lindner S, Xiong G, Eilles E, Unterrainer M, Albert NL, Becker-Bense S, Brandt T, Ziegler S, la Fougere C, Dieterich M, Bartenstein P. *In Vivo* Imaging of Glial Activation after Unilateral Labyrinthectomy in the Rat: A [¹⁸F]GE180-PET Study. *Front Neurol* 2017; 8: 665.

Zwergal A, Kirsch V, Gerb J, Dlugaiczek J, Becker-Bense S, Dieterich M. Neurootologie: Grenzfälle zwischen Ohr und Gehirn. *Der Nervenarzt* 2018; 89: 1106-14.

IX. VERZEICHNIS DER ABBILDUNGEN UND TABELLEN

1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Vestibularapparat (adaptiert nach Boenninghaus & Lenarz, 2007)...	5
Abbildung 2:	Kinetik reaktiver Neuroplastizitätsmechanismen im deafferentierten Nucleus vestibularis (Tighilet & Chabbert, 2019) ..	12
Abbildung 3:	Funktionsprinzip eines Ringtomographen	28
Abbildung 4:	Strukturformel von [^{18}F]FLT (Kim et al., 2015)	31
Abbildung 5:	Strukturformel von [^{18}F]GE180 (Kim et al., 2015)	32
Abbildung 6:	Strukturformel von BrdU (Kim et al., 2015)	34
Abbildung 7:	Übersicht Tierversuchsvorhaben	42
Abbildung 8:	Durchführung der chemischen Labyrinthektomie	45
Abbildung 9:	Schematische Darstellung des T-Maze	47
Abbildung 10:	Durchführung eines μPET -Scans	50
Abbildung 11:	Scanprotokoll für [^{18}F]FLT	51
Abbildung 12:	Scanprotokoll für [^{18}F]GE180	51
Abbildung 13:	Anfertigung histologischer Präparate	54
Abbildung 14:	[^{18}F]FLT-Template zur Koregistrierung im Programm PMOD	56
Abbildung 15:	T-Maze, Distanz im Gruppenvergleich	61
Abbildung 16:	T-Maze, Geschwindigkeit im Gruppenvergleich	62
Abbildung 17:	T-Maze, Bewegungsverhalten im Gruppenvergleich	63
Abbildung 18:	Beispiele ausgezählter Strukturen mit BrdU-positiven Zellen	65
Abbildung 19:	Aufnahmen ausgezählter SVZ im Gruppenvergleich	66
Abbildung 20:	Auszählung Subventrikuläre Zone im Gruppenvergleich	67
Abbildung 21:	Auszählung Gyrus dentatus im Gruppenvergleich	68
Abbildung 22:	Auszählung Nuclei vestibulares im Gruppenvergleich	69
Abbildung 23:	Darstellung der SPM8-Analyse für [^{18}F]FLT-Uptake in der SVZ	71
Abbildung 24:	[^{18}F]FLT-VOI-Analyse der SVZ im Zeitverlauf	72
Abbildung 25:	Darstellung der SPM8-Analyse für [^{18}F]FLT-Uptake im Hippocampus	73
Abbildung 26:	[^{18}F]FLT-VOI-Analyse des DG im Zeitverlauf	74
Abbildung 27:	Darstellung der SPM8-Analyse für [^{18}F]FLT-Uptake in den VN	75
Abbildung 28:	[^{18}F]FLT-VOI-Analyse der VN im Zeitverlauf	76
Abbildung 29:	[^{18}F]GE180-VOI-Analyse der SVZ im Zeitverlauf	77
Abbildung 30:	Darstellung der SPM8-Analyse für [^{18}F]GE180-Uptake im Hippocampus	78

Abbildung 31:	[¹⁸ F]GE180-VOI-Analyse des DG im Zeitverlauf.....	79
Abbildung 32:	Darstellung der SPM8-Analyse für [¹⁸ F]GE180-Uptake in den VN..	80
Abbildung 33:	[¹⁸ F]GE180-VOI-Analyse der VN im Zeitverlauf.....	81
Abbildung 34:	Korrelationsanalyse [¹⁸ F]FLT-μPET und Histologie für VN	83
Abbildung 35:	SPM8-Kovariatenanalyse von [¹⁸ F]FLT-Uptake und Erfolgsquote ..	84
Abbildung 36:	SPM8-Kovariatenanalyse von [¹⁸ F]GE180-Uptake und Geschwindigkeit.....	85
Abbildung 37:	Repräsentative Darstellung einer VOI-Korrelationsanalyse von [¹⁸ F]FLT- und [¹⁸ F]GE180-Uptake	86

2. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Medizinisch wichtige Zerfallsarten	26
Tabelle 2:	Beispiele kurzlebiger Tracer für das PET (nach Schaller, 2003)	30
Tabelle 3:	Verhaltensparameter im Programm EthoVision XT	49
Tabelle 4:	Tieranzahl untersuchter Versuchsgruppen	58
Tabelle 5:	Erfolgsquote (Mittelwerte mit Standardfehler)	60
Tabelle 6:	Distanz (Mittelwerte mit Standardfehler)	61
Tabelle 7:	Geschwindigkeit (Mittelwerte mit Standardfehler)	62
Tabelle 8:	Bewegungsverhalten (Mittelwerte mit Standardfehler)	63
Tabelle 9:	Korrelationsanalysen von Erfolgsquote und Bewegungsparametern .	64
Tabelle 10:	Zellcount SVZ (Mittelwerte mit Standardfehler)	67
Tabelle 11:	Zellcount DG (Mittelwerte mit Standardfehler)	68
Tabelle 12:	Zellcount VN (Mittelwerte mit Standardfehler)	69
Tabelle 13:	[¹⁸ F]FLT-Uptake SVZ (Mittelwerte mit Standardfehler)	72
Tabelle 14:	[¹⁸ F]FLT-Uptake DG (Mittelwerte mit Standardfehler)	74
Tabelle 15:	[¹⁸ F]FLT-Uptake VN (Mittelwerte mit Standardfehler)	76
Tabelle 16:	[¹⁸ F]GE180-Uptake SVZ (Mittelwerte mit Standardfehler)	77
Tabelle 17:	[¹⁸ F]GE180-Uptake DG (Mittelwerte mit Standardfehler)	79
Tabelle 18:	[¹⁸ F]GE180-Uptake VN (Mittelwerte mit Standardfehler)	81

X. DANKSAGUNG

Meinem Mentor PD Dr. Andreas Zwergal möchte ich einen großen Dank aussprechen für die stets gut gelaunte Betreuung, die Überlassung des spannenden Themas dieser Arbeit sowie die Möglichkeit mich auch an Herausforderungen in der Planung, Umsetzung, Auswertung und internationalen Präsentation verschiedener Projekte weiterzuentwickeln.

Meinem Doktorvater Herrn Professor Dr. Wolf gilt mein besonderer Dank für die Betreuung der Dissertation sowie die Vertretung an der Tiermedizinischen Fakultät.

Ich danke der Nuklearmedizinischen Klinik und Poliklinik der LMU München, insbesondere Frau Professor Dr. Sibylle Ziegler für den interdisziplinären Austausch und die uneingeschränkte Unterstützung bei der Anfertigung dieser Dissertation.

Beim DSGZ und BMBF bedanke ich mich für die Finanzierung dieses Forschungsprojektes.

Ich möchte mich bei allen Mitarbeitern des Teams für die gute Zusammenarbeit bedanken, allen voran Magdalena und Anja für die vielen Stunden und späten Abende, die wir im Beruflichen und Privaten gemeinsam verbracht haben. Wir waren ein richtig gutes Team! Ebenso gilt mein Dank den Physikern und Chemikern, die am Gelingen der μ PET-Scans und -Auswertungen maßgeblich beteiligt waren.

Allen Kollegen, besonders meinem Büro, möchte ich für die gegenseitige Motivation, entstandene Freundschaften und ein stets offenes Ohr in allen Lebenslagen von ganzem Herzen danken. Julia und Alexandra - ihr wart eine große Unterstützung.

Mein größter Dank gilt meiner Familie, besonders meinen Eltern Andrea und Michael, meiner Schwester Jenny und meinem Freund Christoph. Ihr hattet immer Zeit mir zuzuhören und habt mir durch Zuversicht, Verständnis, ermunternde Worte und manchmal etwas Ablenkung vom Alltag unendlich geholfen. Ohne euch wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen! Schließlich möchte ich auch meinen Großeltern danken, die immer an mich geglaubt haben und heute mit Sicherheit sehr stolz wären.